

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de É. Metchnikoff.

DU MODE D'ACTION DE L'ADRÉNALINE SUR LES TOXINES BACTÉRIENNES

par A. MARIE.

On sait depuis 1912 (1) qu'un alcaloïde normal de l'organisme, l'adrénaline, présente à un haut degré le pouvoir de neutraliser les toxines solubles. Parmi les questions nombreuses que suscite ce fait nouveau, l'une des plus importantes est celle de son mécanisme : l'adrénaline agit-elle seulement en modifiant les caractères physiques et chimiques des toxines, ou bien la présence dans l'organisme des sécrétions de la surrénale permet-elle aux humeurs d'exercer un pouvoir antitoxique sur les poisons bactériens? Telle est la question à laquelle nous apportons la contribution suivante, en retenant surtout parmi les faits découverts par nous ce qui a trait d'une part à la *neutralisation du pouvoir toxique par l'adrénaline*, d'autre part à l'*action de cette substance dans l'immunisation par les mélanges neutres toxine-adrénaline*.

(1) C. R. Soc. Biol., LXXII, p. 864.

I. — NEUTRALISATION DU POUVOIR TOXIQUE PAR L'ADRÉNALINE

I. — Nos recherches sur cette question ont abouti à une première constatation importante : tandis que l'adrénaline et ses sels peuvent rendre inoffensives de très nombreuses doses de toxines bactériennes telles que les poisons diphtérique et tétanique, des toxines végétales (1) comme l'abrine, la crotine, la ricine, enfin certains venins, la sécrétion principale des capsules se montre tout à fait inactive sur les alcaloïdes végétaux, et aussi sur un extrait microbien, la tuberculine. Nous avons fait de nombreux essais avec ces dernières substances et jamais n'avons pu déceler la moindre action de l'adrénaline sur elles. Ainsi, la dose mortelle, 0 gr. 000025 de sulfate de strychnine pour une souris de 15 grammes, la tuera dans le même temps, que cette quantité ait été ou non mélangée et soumise à une ébullition prolongée avec un sel d'adrénaline; il en est de même pour la morphine, dont le chlorhydrate tue la souris à la dose de 0 gr. 005, sans être influencé par un contact prolongé avec l'alcaloïde des surrénales, ou avec la glande elle-même.

Nous pourrions faire des remarques analogues pour la nicotine, la cocaïne, et aussi pour une autre substance, la tuberculine, qui tue le cobaye tuberculeux aux mêmes doses, mélangée et chauffée ou non avec l'adrénaline.

Or les alcaloïdes végétaux, ainsi que la tuberculine, ont un caractère biologique commun : s'il est relativement facile d'augmenter la résistance naturelle de l'organisme à leur action toxique, on ne parvient pas à déceler d'anticorps spécifiques dans le sang des animaux accoutumés à ces poisons; pour les sels de morphine, en particulier, dont on arrive à faire supporter d'assez fortes doses au chien, jamais nous n'avons constaté la présence d'anticorps spécifiques dans le sang de cet animal, et s'il est un caractère biologique différenciant les toxines des alcaloïdes, il semble que ce soit l'impossibilité pour ceux-ci de provoquer dans le sang l'apparition d'anticorps spécifiques.

(1) *C. R. Soc. Biol.*, LXXVIII, p. 330.

Nous sommes ainsi conduit à opposer l'un à l'autre ces deux ordres de faits : d'une part l'adrénaline neutralise des produits donnant des antitoxines, d'autre part elle laisse inaltéré le pouvoir toxique de substances auxquelles on ne connaît pas d'anticorps. On peut donc se demander si, en plus des réactions physico-chimiques entre une toxine et l'adrénaline, il ne se fait pas dans l'organisme de réaction humorale ayant pour effet de rendre la toxine inoffensive, si bien qu'on pourrait se représenter sa neutralisation par l'adrénaline en deux temps, le premier de transport de l'oxygène par l'adrénaline sur la toxine, elle-même destinée dans un deuxième temps à être fixée par les anticorps normaux des humeurs.

II. — Dans un autre ordre d'idées, il nous semble difficile d'expliquer, sans l'intervention d'anticorps, d'activité variable avec chaque espèce animale, ce fait que le même mélange toxine-adrénaline, neutre pour une espèce animale, ne l'est pas pour une autre.

Exposons à 37° un mélange de 0,02 c. c. de toxine tétanique et de 0 gr. 0002 de chlorhydrate d'adrénaline, puis injectons la moitié de cette préparation dans la patte chez un cobaye de 320 grammes et l'autre chez une souris de 16 grammes : le premier succombera à un tétanos typique, tandis que la seconde n'aura pas manifesté le plus léger signe de tétanos local. Donc, il ne suffit pas que les deux substances, l'adrénaline et la toxine, réagissent l'une sur l'autre suivant certaines proportions, car l'innocuité de leur mélange varie avec l'espèce animale, avec sa résistance, avec ses qualités humorales, et si le cobaye s'est montré beaucoup plus sensible à la tétanine que la souris, c'est sans doute que le sang de celui-là exerce mal les propriétés fixatrices qui caractérisent les anticorps (1).

III. — Non seulement, ainsi que nous l'avons montré (2), l'alcaloïde des surrénales n'altère pas les propriétés d'antigène de la toxine tétanique, mais l'action de l'adrénaline, dans les mélanges neutres, n'aboutit même pas à une destruction du pouvoir toxique de la tétanine, car nous avons vu quelquefois le tétanos éclater chez des animaux, par exemple à la suite d'une

(1) On sait combien il est difficile d'immuniser le cobaye contre la toxine tétanique.

(2) Ces *Annales*, XXXII, p. 97.

injection de sérum humain pratiquée une semaine après celle du mélange neutre (Tableau I).

TABLEAU I. — Apparition d'un tétanos tardif après l'injection d'un mélange neutre toxine-adrénaline.

INJECTION APRÈS 20 HEURES A 37°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. Souris TT. 0 cc. 001	≡	+										
2. Souris TT. 0 cc. 001 + 0 gr. 0001 de chl. d'adr.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Souris TT. 0 cc. 001 + 0 gr. 0001 de chl. d'adr.	0	0	0	0	0	0 ↑ 0,25 sérum	≡	≡	+			
4. Souris TT. 0 cc. 001 + 0 gr. 0001 de chl. d'adr.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	=	≡	≡
								0,25 sérum				

Ainsi, il a suffi d'un peu de sérum pour faire apparaître tardivement le tétanos chez des souris pour lesquelles l'innocuité du mélange toxine-adrénaline restait assurée (souris 2) sans une semblable injection, laquelle aura modifié non la réaction entre la toxine et l'adrénaline, mais sans doute l'adhésion de la tétanine aux anticorps normaux du sang.

IV. — Dans les remarques qui précèdent, nous nous sommes appuyé sur des recherches où la toxine n'était injectée aux animaux qu'après avoir subi à 37° l'action de l'adrénaline. Si, au lieu d'inoculer de semblables mélanges, on administre séparément les deux substances, on sait que les résultats diffèrent totalement suivant que l'injection est faite sous la peau ou directement dans le sang. Dans le premier cas, l'adrénaline n'exerce jamais d'action préventive contre une intoxication tétanique ou diphtérique; dans le deuxième, on peut (1), chez le cobaye ou chez le lapin, ne pas voir éclater les phénomènes

(1) Ces *Annales*, XXXII, p. 97.

toxiques, même après l'injection de plusieurs doses mortelles de toxine : toutefois, l'adrénaline doit être administrée peu de temps avant la toxine, de préférence dans le même tronc veineux, où se fera peut-être la rencontre de celle-ci avec l'alcaloïde fixé pour un temps sur les terminaisons sympathiques. Mais quel que soit le mode d'administration séparée des deux substances, qu'elles aient été injectées sous la peau ou directement dans le sang, on ne retrouve plus la toxine tétanique

TABLEAU II. — Disparition de la toxine tétanique dans le sang.

INJECTIONS		1	2	3	4	5	6	7
d'adrénaline et ensuite de toxine tétanique à des souris	de leur sang à d'autres souris							
1. Souris reçoit seulement 0 gr. 0001 TT.	15 minutes après la 1 ^{re} injection.	=	≡	≡	+			
2. Souris : 0 gr. 00007 adrén. base dans la veine et 5 minutes après 0 cc. 000015 TT. (PGP).	4 h. après.	0	0	0	0	0	0	0
3. Souris : 0 gr. 0001 chl. d'adr. PGP et 1 h. 30 après 0 cc. 01 TT. PDP	5 min. après.	0	0	0	0	0	0	0
4. Souris : 0 gr. 0001 chl. d'adr. PGP et 5 h. après 0 cc. 01 TT. PDP	5 min. après.	0	0	0	0	0	0	0
5. Souris : seulement 0 cc. 000016 TT.	30 min. après.	—	=	=	=	=	=	=
6. Souris : 0 gr. 00007 chl. d'adr. PGP et 15 heures après 0 cc. 000016 TT. PDP	30 min. après.	0	0	0	0	0	0	0

dans les humeurs. On sait que ce poison y est décelable pendant longtemps chez les animaux qui l'ont reçu à l'état pur. Au contraire, chez tous ceux qui ont reçu d'abord l'adrénaline, puis la toxine tétanique, cette dernière ne se retrouve plus dans le sang de l'animal, lequel pourra néanmoins présenter des signes de tétanos, le poison ayant subi une absorption directe par les expansions nerveuses qui l'ont puisé dans la

lymphe au point d'inoculation, où il reste longtemps à une concentration élevée (1).

Il n'est pas nécessaire d'inoculer la toxine immédiatement après ou en même temps que l'adrénaline pour constater cette disparition du poison tétanique; on ne le retrouve pas davantage s'il a été injecté à une époque où sûrement il ne reste plus trace d'adrénaline dans le sang. On sait, en effet, qu'elle y disparaît en quelques secondes : si la toxine, malgré cette disparition de l'adrénaline, ne se montre plus dans les humeurs, on peut penser qu'une autre substance que l'alcaloïde l'y aura neutralisée (Tableau II, ci-dessus).

Ainsi, tandis que chez les animaux témoins il était facile de déceler la toxine dans le sang du cœur, elle avait disparu chez les animaux adrénalinés : or il est certain que dans cet espace de temps variant entre quelques minutes et quinze heures, toute trace d'adrénaline a disparu, et on est conduit à penser que la toxine avait été neutralisée par une substance autre que l'alcaloïde.

Ce dernier, ainsi que nous l'avons vu (2), se fixe électivement dans le voisinage des terminaisons sympathiques. On peut donc se demander encore si dans un premier temps la toxine n'est pas oxydée par l'adrénaline ainsi fixée, avant de se trouver neutralisée par un anticorps du sérum sanguin. Dans cette hypothèse, la neutralisation d'une toxine serait toujours conditionnée par deux faits : le premier d'oxydation par l'adrénaline, pouvant se faire *in vitro* ou bien *in vivo*, le deuxième, d'adhésion par les anticorps normaux du sérum.

II. — ACTION DE L'ADRÉNALINE DANS L'IMMUNISATION PAR MÉLANGES NEUTRES TOXINE-ADRÉNALINE

Nous avons montré (3) que l'adrénaline laisse intactes les propriétés d'antigène de la toxine tétanique : s'il en était autrement, on comprendrait mal la possibilité d'une immunisation des animaux, au cours de laquelle les lésions rencontrées dans les

(1) Ces *Annales*, XVI, p. 818.

(2) Ces *Annales*, XXXII, p. 97.

(3) Ces *Annales*, loco. citato.

surrénales témoignent d'une participation intense du système chromaffine, celui qui sécrète l'alcaloïde des capsules. De plus l'emploi de l'antigène tétanique adrénaliné pour les vaccinations nous avait révélé une propriété intéressante et utile à sa préparation. Si l'on cherche en effet, dans les mélanges neutres toxine-adrénaline, à se débarrasser, par la dialyse, de l'adrénaline en raison de sa haute toxicité, on voit qu'en dialysant elle se charge elle-même des qualités d'antigène de la toxine, comme si cette dernière était une substance constituée par deux groupements séparables l'un de l'autre, le premier doué du pouvoir d'antigène et entraîné par l'adrénaline à travers la paroi dialysante, le deuxième toxique et restant dans le dialyseur quand le mélange a été préparé avec un excès de toxine. C'est là un procédé commode pour se procurer un mélange neutre antigène tétanique-adrénaline, puisque le liquide dialysé présente, à côté des propriétés de l'adrénaline, celles d'antigène de la toxine, et cela sans aucun pouvoir tétanisant.

Nous ferons remarquer d'ailleurs que la toxine tétanique *pure* ne traverse jamais les dialyseurs et que l'eau dans laquelle ils plongent ne présente à aucun moment de propriété immunisante, qu'elle soit additionnée ou non de doses croissantes d'adrénaline avant l'injection aux animaux.

Une chose frappante quand on utilise cet antigène tétanique dialysé, c'est la rapidité avec laquelle il provoque dans l'organisme l'apparition d'antitoxine spécifique et l'on se trouve ainsi conduit à analyser le phénomène, à se demander en particulier, si en dehors du rôle spécifique joué par l'antigène tétanique, l'adrénaline n'exercerait pas une action par elle-même.

Il va de soi qu'on ne saurait s'attendre à voir l'adrénaline vacciner un animal contre une toxine bactérienne: un traitement longtemps poursuivi par des doses croissantes de cet alcaloïde seul n'a d'autre effet que de créer une accoutumance à ce dernier poison, plus facile à réaliser si l'on utilise les sels d'adrénaline droite, sans pour cela augmenter la résistance naturelle de l'organisme vis-à-vis de la toxine. Pour que celle-ci soit neutralisée *in vivo* après une injection d'adrénaline, nous avons vu que les deux substances doivent être introduites directement dans la circulation et à peu d'intervalle l'une de l'autre.

Toutefois, on peut se demander si les propriétés humorales, caractérisant ce que l'on appelle les anticorps normaux, ne se manifesteraient pas d'une façon particulièrement active *in vitro* dans le sérum d'animaux inoculés avec les sécrétions des glandes surrénales, glandes dont le fonctionnement semble être constamment intéressé au cours des vaccinations contre les toxines microbiennes.

Dans les essais qui suivent (Tableau III) les injections ont toujours été faites par la voie sanguine, aussi bien pour l'adrénaline que pour les émulsions, préalablement filtrées sur papier, de glandes surrénales, tout autre mode d'administration, sous-cutané ou intrapéritonéal, de ces produits n'ayant donné que des résultats négatifs.

Il ressort de ces expériences que le sérum, dénué de toute propriété antitétanique à l'état normal, a présenté un pouvoir antitoxique assez faible, mais évident, à la suite de l'injection, à des lapins, d'adrénaline ou d'extrait capsulaire par la voie veineuse. Or, nous rappellerons que les physiologistes ne reconnaissent pas la présence de l'adrénaline à l'état libre dans le sang, au delà de quelques secondes après son injection. En supposant qu'il en fût autrement, on voit que l'énorme dilution à laquelle se trouverait cet alcaloïde dans le sérum s'oppose à la possibilité d'une neutralisation directe de la toxine par l'adrénaline. De plus, les faits ne se présentent pas toujours avec les mêmes caractères que dans ce tableau, et l'irrégularité des résultats quantitatifs est pour nous une preuve de plus en faveur d'une action d'anticorps normaux (1).

On sait en effet quelles variations présente la courbe d'une antitoxine chez des animaux en cours d'immunisation; si la teneur en anticorps spécifiques subit les irrégularités considérables que l'on sait pendant les vaccinations, quelles ne doivent pas être celles des anticorps normaux?

Quant au rôle de l'adrénaline ou des extraits capsulaires dans

(1) Nous rappellerons que les anticorps normaux du sérum ont été étudiés surtout vis-à-vis des toxines solubles. Dans le sang de 60 p. 100 des enfants, de 85 p. 100 des adultes, on a reconnu la présence d'antitoxine diphtérique, sans que l'histoire des personnes autorisât à l'attribuer à une diphtérie antérieure. Nous ne connaissons aucune recherche analogue dans le sérum du lapin, mais chez 30 p. 100 des chevaux et des bovidés on a constaté un pouvoir antitétanique très net de leur sérum.

cette apparition du pouvoir antitoxique du sérum, on peut y voir un processus d'oxydation de substances (1) qui, à l'état normal, s'opposeraient à l'adhésion des toxines par ces complexes lipéoïdo-protéiques que sont les anticorps normaux.

Les sécrétions des glandes surrénales, l'adrénaline, passent aussi pour jouer un rôle d'hormones, et nous avons recherché si un organe tel que le ceryeau ne pourrait offrir un pouvoir antitétanique alors que le sérum n'en présente pas, chaque fois notamment que l'adrénaline a été introduite non par la voie sanguine, mais dans le tissu cellulaire. De plus, mettant à profit la tolérance que nous avons signalée (2) pour l'encéphale vis-à-vis de l'adrénaline, nous avons, dans d'autres expériences, introduit cet alcaloïde additionné ou non d'antigène tétanique directement dans le cerveau, pour savoir si la substance nerveuse ne pouvait ainsi acquérir de propriétés préventives (3).

La substance cérébrale, qui présente *in vitro*, chez les mammifères, un pouvoir d'absorption intense pour la toxine tétanique, est, on le sait, tout à fait dépourvue de propriétés préventives, ce que montre une fois de plus le tableau IV. Mais on y voit que le traitement de ces animaux par l'adrénaline, introduite dans le tissu cellulaire ou bien directement dans l'encéphale, a pu rendre la substance cérébrale active (4) *in vivo* contre environ une dose mortelle de toxine tétanique, alors que le sang était dénué de tout pouvoir préventif (5).

(1) Pour que soit plausible cette hypothèse de substances antagonistes, qui dans le sérum s'opposeraient à l'action des anticorps normaux et seraient plus oxydables qu'eux, il faut que l'adrénaline reste sans action sur ces anticorps : précisément, des expériences variées nous ont convaincu de l'inaltérabilité parfaite de l'antitoxine tétanique et de l'antitoxine diphtérique après un contact très prolongé avec l'adrénaline.

(2) Ces *Annales*, loco citato.

(3) Les propriétés « antitétaniques » bien connues de la substance cérébrale s'opposent à faire des mélanges *in vitro* et conduisent à rechercher le pouvoir *préventif* qui, on le sait, manque totalement dans la substance nerveuse à l'état normal.

(4) On peut prélever le cerveau et l'inoculer à la souris dès le lendemain de l'injection d'adrénaline; toutefois, il faut attendre quelques jours pour permettre la résorption de la substance nerveuse chez l'animal avant de l'éprouver avec la toxine.

(5) Au cours de l'évolution de la rage et de la vaccination contre elle, nous avons montré et suivi dans la substance cérébrale le développement de propriétés antirabiques; d'autre part, on sait combien les glandes surrénales sont intéressées dans l'incubation de cette maladie : peut-être y a-t-il une relation entre les deux ordres de faits, l'adrénaline, en tant qu'hormone, développant

TABLEAU IV. — Pouvoir préventif de la substance cérébrale.

INJECTIONS DE CHL. D'ADRÉNALINE à 1 pour 1.000	INJECTIONS DE LA SUBSTANCE CÉRÉBRALE		ÉPREUVE AVEC TT. au bout de	1	2	3	4	5	6	7
1. — Souris : 0 cc. 10 2 jours de suite. . . .	1. Souris : cerveau de la souris 1, pris le lendemain.		48 ^e heure : 0 cc. 00001	0	0	0	0	0	0	0
	2. Souris : cerveau de la souris 1, pris le lendemain.		6 ^e jour : 0 cc. 00001	0	0	0	0	0	0	0
	3. Souris : cerveau de souris neuve.		3 ^e jour : 0 cc. 00001	—	—	—	+	—	—	—
2. — Souris : 0 cc. 10 6 jours de suite. . . .	4. Souris : cerveau de la souris 2, pris 6 jours après.		4 ^e jour : 0 cc. 00001	0	0	0	0	0	0	0
	5. Souris : cerveau de la souris 2, pris 6 jours après.		4 ^e jour : 0 cc. 00001	0	0	—	—	—	—	—
	6. Souris : cerveau du cobaye 3, pris aussitôt après la dernière injection		4 ^e jour : 0 cc. 00001	—	—	—	—	—	+	—
3. — Cobaye : 0 cc. 10 8 jours de suite. . . .	7. Souris : cerveau du cobaye 4, pris 7 jours après la dernière injection		4 ^e jour : 0 cc. 00001	—	—	—	—	—	—	—
	8. Souris : cerveau du cobaye 4, pris 7 jours après la dernière injection		8 ^e jour : 0 cc. 00001	0	0	0	0	0	0	0
	9. Souris : cerveau du cobaye 4, pris 7 jours après la dernière injection		7 ^e jour : 0 cc. 00001	—	—	—	+	—	—	—
4. — Cobaye : 0 cc. 10 43 jours de suite. . . .	10. Souris : cerveau de cobaye neuf.		4 ^e jour : 0 cc. 00001	0	0	0	0	0	0	0
	11. Souris : sang du lapin 6, pris 10 jours après la dernière injection		4 ^e jour : 0 cc. 00001	0	0	0	0	0	0	0
	12. Souris : sang du lapin 7, pris le lendemain de l'injection.		8 ^e jour : 0 cc. 00001	—	—	—	—	+	—	—
5. — Lapin : 0 cc. 10 antigène tét. adr. dans le cerveau	13. Souris : cerveau du lapin 7, pris le lendemain de l'injection.		8 ^e jour : 0 cc. 00001	0	0	0	0	0	0	0
	14. Souris : cerveau du lapin 8, pris 5 jours après l'inj.		4 ^e jour : 0 cc. 00001	0	0	0	0	0	0	0
	15. Souris : cerveau du lapin 8, pris 4 jours après l'inj.		3 ^e jour : 0 cc. 00001	0	0	0	0	0	0	0
6. — Lapin : 0 cc. 25 antigène tét. adr. dans le cerveau	16. Souris : cerveau de lapin neuf.		8 ^e jour : 0 cc. 00001	—	—	—	+	—	—	—

En terminant notre premier mémoire (1), nous avons rappelé que, dans les toxi-infections, beaucoup d'accidents d'asthénie cardiaque étaient attribués à un épuisement de la fonction adrénalinique et à une défaillance consécutive du système vasculaire; à la suite des recherches que nous venons d'exposer, nous nous demandons si l'action bienfaisante de l'adrénaline, observée dans certaines maladies infectieuses (grippe, pneumonie, fièvre typhoïde, etc.), ne tiendrait pas aussi au rôle favorisant que peut avoir cet alcaloïde dans l'activité des anticorps normaux du sérum.

dans le cerveau des réactions de défense dont l'infection rabique finit par triompher. (Ces *Annales*, XXVI.)

(1) Ces *Annales*, XXVII, p. 294.

DE L'ACTION ANTAGONISTE DU SÉRUM SANGUIN DE QUELQUES MAMMIFÈRES SUR LES PROTÉASES MICROBIENNES

par M. L. LAUNOY.

I

L'étude de l'action du sérum sanguin de Mammifères sur les protéases bactériennes a déjà été faite par quelques chercheurs.

Von Dungern (1), Moreschi (2), Hata (3), Kürt Meyer (4) ont étudié ou signalé l'action de ces sérums sur des protéases d'origines variées. Les bactéries utilisées par eux ont été le *Staphylococcus aureus* (Von Dungern), le *Vibrio cholerae* (Moreschi), les *B. fluorescens liquefaciens* et *M. prodigiosus* (Hata), les *B. pyocyaneus* et *M. prodigiosus* (Kürt Meyer); leurs tests d'épreuve furent la gélatine (Von Dungern, Moreschi; Hata), le caséinate de soude (Kürt Meyer); leurs expériences ont été faites en milieu phéniqué (Hata) ou fluoré (Moreschi). Moreschi et Hata ont établi pour leurs expériences une unité fermentaire. Ces deux auteurs, dont les expériences sont particulièrement à mettre en parallèle avec les nôtres, ont conclu à une inhibition des protéases bactériennes par les sérums. Pour Hata cette inhibition n'est pas absolue; Moreschi obtint l'inhibition de la protéase du choléra avec des doses faibles de sérum humain ou de sérum de lapin; dans ses expériences, Moreschi a déterminé, à notre avis, ce que nous avons appelé le « seuil »; il a fait usage, ce semble, d'une unité fermentaire beaucoup trop faible et son expérience n'est pas d'assez longue durée. Tous ces auteurs conclurent d'ailleurs que le pouvoir antidiastasique

(1) VON DUNGERN, *Munch. med. Woch.*, An. 45, 1898, p. 1157.

(2) MORESCHI, Analyse in *Centr. f. Bakt.*, Ref. 35, 1904, p. 96.

(3) HATA, Analyse in *Centr. f. Bakt.*, Ref. 34, 1904, p. 208.

(4) KÜRT MEYER, *Bioch. Zeitschr.*, 32, 1911, p. 280.

normal du sang pour une protéase microbienne est renforcé par des injections de protéase appropriée.

Je reviendrai sur ce dernier point des travaux de mes devanciers à l'occasion d'une étude en cours sur les antiprotéases (1).

Le travail que je présente aujourd'hui concerne l'action comparée du sérum sanguin de Mammifères sur des protéases bactériennes et sur la trypsine. J'ai eu le souci principal d'obtenir à chaque instant des expériences non seulement comparables entre elles, mais comparables aussi avec les expériences de mon précédent mémoire (2), dont celui-ci est une suite.

J'apporte ici des faits; les questions théoriques dont la discussion s'impose ne peuvent encore être utilement abordées avec les arguments que je possède. Je ne traiterai donc ni de l'*existence*, ni de la *spécificité* des *anticorps dits normaux* du sérum sanguin; je me propose de revenir sur ces questions un peu plus tard.

II

INDICATIONS TECHNIQUES

Dans mon travail antérieur il a été défini une méthode pour mesurer l'action antitryptique du sérum sanguin s'exerçant sur la trypsine du pancréas des Mammifères. Dans le travail présent, cette méthode est appliquée à l'étude comparée de l'action exercée par le sérum sanguin, d'une part contre la trypsine des Mammifères, d'autre part contre les protéases microbiennes désignées ci-après.

Méthode de travail. — L'étude de l'action exercée par le sérum sanguin contre une protéase microbienne comprend trois stades :

- a) Choix de la bactérie appelée à fournir la protéase;
- b) Détermination de l'unité gélatinolytique de cette protéase;
- c) Application des données acquises précédemment sur la détermination du pouvoir antitryptique du sérum sanguin.

(1) L. LAUNOY, *C. R. Soc. Biol.*, 1919, p. 57, 23 janvier.

(2) L. LAUNOY, *Ces Annales*, 1919, p. 1-26.

A) CHOIX DE LA BACTÉRIE. — Parmi plusieurs échantillons d'une même espèce bactérienne, il convient de choisir celui qui fournit la protéase la plus active.

Le procédé que j'ai employé pour ce choix, procédé rapide et que l'expérience justifie, résulte de l'observation suivante : Quand on ensemence sur gélatine purifiée (par dialyse) non additionnée d'aucun autre milieu nutritif des bactéries d'espèces variées, seules les bactéries protéolytiques peuvent pousser ; parmi celles-ci poussent le plus rapidement, en liquéfiant le milieu, les bactéries fortement protéolytiques.

Soit, par exemple, à différencier au point de vue de leur valeur gélatinolytique quelques échantillons d'une espèce bactérienne.

On prépare les trois milieux suivants :

Milieu I. . .	Gélatine à 10 p. 100 dialysée.	3 parties.
Milieu II. . .	Gélatine à 10 p. 100 dialysée.	2 —
	Bouillon peptone	4 —
Milieu III. .	Gélatine à 10 p. 100 dialysée.	1 —
	Bouillon peptone.	2 —

On répartit 3 cent. cubes de chacun de ces milieux dans des tubes à hémolyse, on laisse refroidir jusqu'à 40°; on ensemence un tube de chaque milieu avec une forte ôse d'une culture de dix-huit heures en bouillon peptone de chaque bactérie à différencier. En résumé, le procédé consiste à ensemencer avec chaque bactérie un milieu de plus en plus pauvre en sels et en substances protéiques dégradées et, *vice versa*, de plus en plus riche en gélatine purifiée, substance relativement sensible à l'action des protéases microbiennes, mais inadéquate — sauf hydrolyse diastasique — au développement microbien.

Après vingt-quatre heures d'étuve à 37°, on note les résultats. Habituellement tous les tubes du milieu III ont cultivé plus ou moins.

Si rien n'a poussé dans les milieux I et II, on laisse à nouveau vingt-quatre heures à l'étuve et ainsi de suite.

Quand les cultures sont évidentes, on note :

1° Les résultats positifs et les résultats négatifs ;

2° Parmi les résultats positifs on note les tubes pour lesquels le refroidissement du milieu à 10° n'en provoque plus la gélification.

Le choix de l'échantillon à prendre comme test se fera parmi les souches qui poussent dans le milieu I s'il y en a ; parmi celles qui poussent dans le milieu II s'il n'y a pas eu de cultures en milieu I ; de ces dernières on prendra celles qui le plus rapidement provoquent la dissolution de la gélatine.

Comme exemple je rapporte ici les résultats obtenus dans la détermination de la valeur protéolytique d'échantillons de vibrions provenant de la collection de l'Institut Pasteur.

Dans le tableau ci-dessous, le signe ∞ veut dire que, pour le temps donné, la dissolution du milieu est totale. Le signe $+$ signifie que le milieu a cultivé, mais qu'il se gélifie encore par refroidissement ; le chiffre 0 indique les tubes n'ayant pas poussé.

TABLEAU I.

DÉSIGNATION DES SOUCHES	HEURES étuve à 37°	MILIEU			OBSERVATIONS
		I	II	III	
Vibron de Deneke.	42	0	0	∞	Culture faible en III.
Vibron El Torr . .	42	0	+	∞	— — II.
Choléra Zarizin . .	42	0	∞	∞	Culture abondante en II et III.
Choléra M. 1911 . .	42	0	+	∞	Culture faible en II et III.
Choléra Perm 1910 .	42	0	+	∞	Bonne culture en II et III.
Choléra B. 1896 . .	42	0	+	∞	Culture faible en II.
Chol. Petrogr. 1918.	42	0	0	0	

Le procédé d'investigation sur la valeur gélatinolytique d'une bactérie décrit ci-dessus donne un résultat définitif d'emblée lorsque, comme c'est le cas pour les vibrions du tableau I, un seul échantillon liquéfie l'un des tests II ou I dans un temps déterminé. Lorsque plusieurs échantillons donnent le même résultat, on obtient seulement par ce procédé une première sélection des germes. Le choix définitif de l'échantillon adopté comme test est fourni par la détermination de l'unité gélatinolytique de tous les échantillons classés sur le même rang dans la première approximation. On prend alors comme

test le germe pour lequel l'unité gélatinolytique est représentée par le plus faible volume de filtrat d'une culture en bouillon peptone Martin, d'âge X, le même pour la culture de chaque germe.

B. DÉTERMINATION DE L'UNITÉ GÉLATINOLYTIQUE. — Pour résoudre la question de la spécificité ou de la non-spécificité de l'action inhibitrice du sérum sanguin sur des diastases de même ordre, il serait nécessaire que les valeurs de celles-ci soient identiques ; une telle identité d'action, quand il s'agit de trypsine et de protéases, est impossible de toute évidence. Néanmoins, il est nécessaire que l'action de la trypsine et celle des protéases puissent être rapportées à une commune mesure.

L'unité antitryptique et les différentes unités protéolytiques d'origine microbienne que nous désignons comme *unités gélatinolytiques* doivent pouvoir, par rapport à l'unité de test, être superposées à un moment de leur action.

Les caractéristiques de l'unité tryptique ont été définies antérieurement, je les rappelle :

a) Liquéfaction en une heure à 41° de 2 cent.cubes de gélatine à 10 p. 100, purifiée par dialyse, avec :

b) Détermination en dix-huit heures à 41° d'une acidité totale acquise, neutralisée par 1 c.c. 2, — 1 c.c. 3 de soude N/10.

Il semble facile, *a priori*, de déterminer l'unité gélatinolytique d'après les caractéristiques ci-dessus. L'expérience montre, au contraire, l'impossibilité de renfermer les unités gélatinolytiques microbiennes dans le cadre de l'unité tryptique, au moins pour les protéases des bactéries dont je me suis servi.

L'unité gélatinolytique *répondant au premier caractère* de l'unité tryptique : dissolution en une heure à 41° de l'unité de test, n'est pas valable pour la seconde exigence : acidité totale acquise en dix-huit heures à 41° égale à 1 c.c. 2, 1 c.c. 3 de soude N/10 ; dans ces conditions l'hydrolyse totale du test se trouve le plus généralement inférieure, quelquefois de moitié à celle obtenue au moyen de l'unité tryptique. D'autre part, pour une quantité de diastase microbienne *répondant au deuxième caractère* de l'unité tryptique, c'est-à-dire acidité totale acquise en dix-huit heures à 41° égale à 1 c.c. 2, — 1 c.c. 3 de NaOH N/10, le premier caractère fait défaut ; ce n'est plus

en une heure mais dans une durée de temps très inférieure (quelquefois quinze minutes, pour le pyocyanique) que la dissolution du test a lieu.

Ces faits indiquent que l'hydrolyse de la gélatine par les protéases microbiennes, comparée à l'hydrolyse de cette substance par la trypsine, est le plus souvent très ralentie après quelques heures d'action ; les courbes 1, 2, 3, 4 sont la démonstration de cette manière de voir. En présence de ces données expérimentales et me basant, d'autre part, sur l'opinion générale que, dans les actions diastasiques, les phénomènes du début de l'action sont les plus importants, j'ai pris le premier caractère : *dissolution de l'unité de test en une heure*, de l'unité tryptique, pour commune mesure entre cette unité et les unités gélatinolytiques.

Une autre considération intervient également pour justifier cette conclusion. En effet, Sørensen a montré que l'action du formol n'est pas identique avec tous les amino-acides et nous ignorons quels sont les produits d'hydrolyse qui résultent de l'activité des protéases microbiennes sur la gélatine. L'acidité totale mesurant après dix-huit heures l'activité d'une masse déterminée de protéase ne peut avoir dans ces conditions qu'une valeur relative ; elle ne saurait être mise en parallèle avec le chiffre d'acidité mesurant l'activité de la trypsine pendant le même temps. *Si j'ai toujours déterminé cette valeur* (courbes 1, 2, 3, 4) *pour fixer les caractères propres de l'unité gélatinolytique en expérience*, c'est seulement le premier caractère : dissolution de la gélatine, qui m'a servi à désigner celle-ci.

En conclusion, l'unité gélatinolytique, c'est : la plus petite quantité d'une solution de protéase microbienne, ou bien, la plus petite quantité d'un filtrat de culture (d'âge variable) capable de provoquer en une heure, à 41°, la dissolution de l'unité de test (2 cent. cubes de gélatine à 10 p. 100 dialysée).

Préparation de l'unité gélatinolytique.

Dans ces recherches, j'ai employé tout d'abord la protéase précipitée par l'alcool-éther, puis simplement le filtrat sur bougie L3 de cultures d'âges variés. Le premier procédé a l'avantage de donner des solutions actives sous un petit volume ;

il a contre lui la longueur de sa préparation et — du moins à l'époque où ces recherches étaient faites (1918) — la difficulté d'obtenir les matières premières nécessaires à la précipitation.

Des points de vue qui nous intéressent, on peut d'ailleurs se servir indifféremment des solutions de protéase précipitée ou du filtrat de culture; les résultats sont les mêmes dans les deux cas.

EMPLOI DE LA PROTÉASE. — a) Ensemencement de 250 cent. cubes de bouillon peptone Martin; culture à 37°; tous les jours rupture du voile par agitation;

b) Le neuvième jour, addition à la culture de 500 cent. cubes d'un mélange à parties égales d'alcool absolu et d'éther à 66°; mélange par agitation; les microbes s'agglomèrent sous forme d'une masse visqueuse facile à séparer du liquide clair par décantation.

c) Au liquide clair, on ajoute 2.500 cent. cubes du mélange alcool-éther, on observe la formation d'un précipité brunâtre que l'on sépare par filtration sur papier. Après dessiccation du filtre, le précipité recueilli est en si petite quantité que sa séparation d'avec le papier est très difficile, il est préférable de dissoudre directement ce précipité par lavage du filtre avec 100 ou 200 cent. cubes de solution physiologique légèrement carbonatée; la solution obtenue est filtrée sur bougie, distribuée dans des tubes scellés ensuite à la flamme et conservés à la glacière. On a ainsi une solution concentrée de protéase.

La détermination de l'unité gélatinolytique est faite de la même façon que celle de l'unité tryptique après dilution de la solution mère. Il n'y a pas lieu, au début, de dépasser la dilution M/2.

Cette préparation s'applique à la protéase du *B. pyocyannique*.

EMPLOI DU FILTRAT. — Sous le nom de *filtrat* nous désignons le liquide recueilli après filtration sur bougie L3 d'une culture microbienne en bouillon Martin; l'âge de la culture peut être variable; il est habituellement de huit jours, quatre jours à l'étuve et quatre jours à la température ordinaire), du moins pour le *M. prodigiosus*, le *B. pyocyannique*, le *Proteus*. Pour le vibron cholérique, nous avons employé des cultures âgées de

huit à vingt-trois jours ; les cultures âgées sont préférables dans ce cas.

L'unité gélatinolytique est déterminée comme d'habitude ; il est inutile avec les filtrats (sauf le cas signalé dans le tableau II) de diluer ceux-ci. Notre unité gélatinolytique inférieure n'a jamais dépassé 0 c. c. 6.

Le tableau suivant résume quelques données sur la valeur de l'unité gélatinolytique selon la méthode de culture suivie et l'espèce microbienne employée. Nous désignons par la lettre F le filtrat tel quel, c'est-à-dire non dilué.

TABLEAU II.

NOMS DES ESPÈCES MICROBIENNES		TEMPS DE CULTURE en jours		UNITÉ en cent. cubes
		à l'étuve à 37°	au laboratoire 25°	
<i>Pyocyanique</i>	Huv.	7	0	0 c. c. 2 F
—	Huv.	4	0	0 c. c. 1 F
—	Huv.	4	4	0 c. c. 5 F
—	Hubl.	4	0	0 c. c. 2 F
—	Hubl.	4	4	0 c. c. 2 F
—	Sain.	4	4	0 c. c. 2 F
—	Mam.	4	0	0 c. c. 2 F
—	Mam.	4	4	0 c. c. 2 F
—	Raph.	4	0	0 c. c. 2 F
<i>Prodigiosus</i>	4	0	0 c. c. 3 F
—	7	0	0 c. c. 25 F
<i>Proteus M</i>	7	0	0 c. c. 6 F
<i>Vibrion cholérique</i>	Zarizin . . .	4	0	0 c. c. 8 F
—	Zarizin . . .	4	11	0 c. c. 3 F
—	Zarizin . . .	4	19	0 c. c. 25 F
—	Zarizin . . .	5	25	0 c. c. 2 F
<i>Fluorescens liq.</i> (Truche)	0	6	0 c. c. 4 F/2

Pour les recherches, avant d'employer une unité gélatinolytique microbienne on doit s'assurer de sa réaction ; en cas de forte alcalinité on neutralisera avec une solution N/100 d'HCl. Ceci est souvent nécessaire avec les cultures de *Proteus* de huit jours et plus et les vieilles cultures de *Prodigiosus* ; sauf obligation il est préférable de se servir de cultures peu âgées ne contenant pas d'ammoniaque libre.

III

ACTION DES SÉRUMS DE MAMMIFÈRES SUR LES PROTÉASES
MICROBIENNES

Nous avons appliqué à l'action des sérums de Mammifères la technique indiquée dans notre mémoire précédent pour l'étude de l'action inhibitrice de la trypsine.

Les sérums étudiés sont ceux du cobaye, du lapin, du cheval, de l'homme. Il s'agit de sérums frais, de 24 à 48 heures ; les sérums humains étaient négatifs à la réaction de Wassermann (indications de M. Latapie).

Les protéases microbiennes sont celles des bactéries suivantes : *B. pyocyaneus*, *M. prodigiosus*, *Proteus M.*, *V. choléra*.

L'expérience consiste à faire agir sur l'unité gélatinolytique d'une protéase différentes quantités de sérum ; on recherche d'abord les « seuils », puis les « optima ».

Les expériences sont conduites aseptiquement. Chaque expérience sur l'unité gélatinolytique d'une protéase est accompagnée de l'expérience de comparaison sur l'unité tryptique. On détermine les seuils et les optima comme il a été dit ailleurs ; on construit ensuite les graphiques représentatifs du mouvement de la protéolyse en présence de quantités croissantes de sérum.

Avant de titrer l'acidité acquise au cours de la digestion, il est bon de déterminer la durée du gel pour les deux séries comparatives. Les éléments fournis par les temps de gel s'ajoutent à l'étude des graphiques de la protéolyse pour permettre de conclure s'il y a eu inhibition et, dans ce cas, quel est son degré.

A. DÉTERMINATION DES SEUILS. — Le tableau III ci-après résume nos résultats.

D'après ces chiffres, on voit que les sérums étudiés agissant à petites doses, pendant une heure, exercent une action inhibitrice tout à fait comparable à celle que nous avons notée pour la trypsine.

TABLEAU III (*Détermination des seuils*).

ESPÈCES MICROBIENNES	UNITÉ gélatinolytique	HOMME	LAPIN	CHEVAL
<i>Proteus M.</i>	0,6	0,001 0,002	0,004	0,0005 0,001
<i>Prodigiosus</i>	0,3	0,002	0,002	0,003
Pyocyanique Huv.	0,1	0,002	0,003	0,0005 0,001
Choléra Zarizin.	0,25	0,0005	0,002	0,002

B. DÉTERMINATION DES OPTIMA.

Etude du sérum humain.

L'expérience est disposée comme il a été indiqué dans notre

TABLEAU IV.

QUANTITÉ de sérum en cent. cubes.	UNITÉ GÉLATINOLYTIQUE		UNITÉ TRYPTIQUE	
	Temps de gel à 20° en minutes	Acidité totale acquise en c. c. NaOH N/1	Temps de gel à 20° en minutes	Acidité totale acquise en c. c. NaOH N/10
0,01	∞	0,4	∞	0,7
0,02	∞	0,25	∞	0,25
0,03	∞	0,25	∞	0,2
0,04	∞	0,25	8'30	0,1
0,05	∞	0,22	8'30	0,1
0,06	∞	0,22	8'30	0,1
0,07	∞	0,2	8'30	0,1
0,08	∞	0,2	7'30	0,1
0,09	∞	0,2	7'30	0,1
0,1	∞	0,22	7'30	0,2
0,12	∞	0,25	7'30	0,15
0,14	∞	0,25	7,30	0,15
0,16	∞	0,25	7'	0,15
0,18	∞	0,25	7'	0,15
0,20	∞	0,3	7'	0,15
Témoin 0	7'	0,0	7'	0,00
— Prot.	∞	0,55	»	»
— Tryps.	»	»		1,03

premier mémoire (Ces *Annales*, 1919, p. 23). Les témoins nécessaires aux corrections seront faits, les voici :

- a) 2 c.c. Test + Unité gélatinol. + Eau physiol. q. s. p. 3 c.c.
 b) — + — + 0,05 sérum + Eau phy. q. s. p. 3 c.c.
 c) — + — + 0,1 — + — q. s. —
 d) — + — + 0,2 — + — q. s. —

Ces témoins ne doivent pas séjourner à l'étuve; aussitôt préparés, on en tire l'acidité totale.

1° Action du sérum humain sur l'unité gélatinolytique du *B. pyocyaneus* et sur l'unité tryptique. — L'unité gélatinolytique était égale à 0 c.c. 1; la souche employée était la souche Huv. L'unité tryptique était l'unité déjà définie, dans le cas actuel

TABLEAU V.

QUANTITÉ de sérum en cent. cubes	UNITÉ GÉLATINOLYTIQUE			
	du <i>Proteus M</i>		du <i>M. Prodigiosus</i>	
	TEMPS DE GEL à 20° en minutes	ACIDITÉ TOTALE acquise en c. c. NaOHN/10	TEMPS DE GEL à 20° en minutes	ACIDITÉ TOTALE acquise en c. c. NaOHN/10
0,01	∞	0,6	∞	0,87
0,02	∞	0,6	∞	0,67
0,03	∞	0,55	∞	0,47
0,04	∞	0,55	∞	0,37
0,05	∞	0,5	∞	0,37
0,06	∞	0,5	∞	0,39
0,07	∞	0,5	∞	0,39
0,08	∞	0,5	∞	0,49
0,09	∞	0,5	∞	0,37
0,1	∞	0,42	∞	0,44
0,12	∞	0,42	∞	0,39
0,14	∞	0,45	∞	0,50
0,16	∞	»	∞	0,50
0,18	∞	»	∞	»
0,2	∞	0,3	»	»
Témoin 0	8'	»	7'30	»
— <i>Proteus</i> . . .	∞	0,55	»	»
— <i>Prodig.</i> . . .	»	»	∞	0,47

Le graphique n° 5 interprète le tableau IV; les n°s 6 et 7, le tableau V

elle s'est trouvée un peu inférieure, l'acidité acquise étant seulement égale à 1 c.c. 03 au lieu de 1 c.c. 2, 1 c.c. 3. (Voy. tableau IV ci-dessus.)

2° *Action du sérum humain sur l'unité gélatinolytique du Proteus M et sur celle du Micrococcus prodigiosus.* — L'unité gélatinolytique du *Proteus M* était égale à 0 c.c. 6; l'unité gélatinolytique du *M. prodigiosus* était égale à 0 c.c. 25. (Voy. tabl. V, ci-dessus.)

3° *Action du sérum humain contre l'unité gélatinolytique du Vibrion cholérique.* — Il ne paraît pas nécessaire de donner le tableau de la marche de la protéolyse par l'unité gélatinolytique du *Vibrion cholérique*, le graphique n° 8 en est la représentation.

Etude du sérum de cheval.

Action du sérum de cheval sur les unités gélatinolytiques des

TABLÉAU VI.

QUANTITÉ DE SÉRUM en cent. cubes	TEMPS DE GEL		ACIDITÉ TOTALE ACQUISE			
	à 20°		Unité gélatinolytique			Unité tryptique
	trois protéases	trypsine	<i>Prodigio- sus</i>	<i>Proteus</i>	<i>Pyocy- anique</i>	
0,01	∞	∞	0,9	0,6	0,2	0,8
0,02	∞	6'	0,6	0,47	0,2	0,25
0,03	∞	6'	0,45	0,2	0,2	0,2
0,04	∞	6'	0,4	0,35	0,2	0,2
0,05	∞	6'	0,4	0,4	0,2	0,2
0,06	∞	6'	0,4	0,32	0,2	0,175
0,07	∞	6'	0,4	0,3	0,2	0,175
0,08	∞	6'	0,4	0,32	0,2	0,15
0,09	∞	6'	0,45	0,32	0,2	0,15
0,1	∞	6'	0,45	0,32	0,25	»
0,12	∞	6'	0,45	0,3	0,25	»
0,14	∞	5'	0,45	0,275	0,25	»
0,16	∞	5'	0,4	»	0,25	»
0,18	∞	5'	0,4	»	0,3	»
0,2	∞	5'	»	0,35	0,3	»
Témoin 0	4'30	4'30	0,0	0,0	0,0	0,0
— Protéase	∞	»	1,1	0,6	0,6	»
— Trypsine	»	∞	»	»	»	1,12

B. pyocyaneus, *M. prodigiosus*, *Proteus M*, *Vibrion cholérique* (Zarizin). — Dans le tableau VI ci-dessus, nous avons réuni dans une seule colonne les résultats concernant le temps de gel, celui-ci étant infini dans tous les cas, sauf bien entendu pour la trypsine.

Les graphiques 3, 10 et 11 interprètent les résultats du tableau VI, le graphique 12 interprète l'action du sérum de cheval sur l'unité gélatinolytique du *vibrion cholérique*.

Etude du sérum de lapin.

Il ne nous paraît pas nécessaire de fournir pour le sérum de lapin les tableaux que nous avons donnés pour le sérum humain et pour le sérum de cheval. D'ailleurs des expériences analogues seront détaillées plus tard, quand nous apporterons nos résultats concernant les antiprotéases. Nous voyons que les graphiques représentant l'action du sérum normal de lapin contre les protéases étudiées renforcent les conclusions d'ordre général que nous pouvons tirer de l'étude du sérum humain et du sérum de cheval. Nous donnons comme exemple l'action du sérum de lapin contre l'unité gélatinolytique du *Proteus M*, du *B. pyocyanique* et du *V. cholerae*.

(Voir graphiques 13, 14 et 15.)

Etude du sérum de cobaye.

Nous aurons également à revenir sur l'action du sérum de cobaye contre certaines protéases microbiennes. On trouve ici le graphique représentatif de l'action du sérum de cet animal sur l'unité gélatinolytique du *Vibrion cholérique* (souche Zarizin).

(Voir graphique 16.)

Interprétation des résultats.

L'examen des graphiques 5 à 16 montre que le sérum des Mammifères qui, comme le cheval, l'homme, le cobaye possède

un fort pouvoir antitryptique n'exerce qu'une faible action antagoniste sur les protéases microbiennes.

Lorsque cette action antagoniste se développe dans des expériences de courte durée (une heure) elle est évidente, même pour de petites doses de sérum (recherche du « seuil ») ; mais, quand on prolonge le temps de digestion pendant quelques heures, une quantité relativement importante de sérum : 0 c. c. 05 par exemple qui, pour la trypsine, est une dose *inhibitrice* ou *pré-inhibitrice*, ne peut apporter, quand il s'agit de protéase microbienne, qu'un retard dans la dissolution de la gélatine ; elle ne l'empêche pas.

Le tableau ci-dessous (tableau VII) indique pour les unités des protéases étudiées le temps nécessaire à celles-ci pour dissoudre l'unité de test, en présence de 0 c. c. 05 de sérums variés.

TABLEAU VII.

UNITÉS GÉLATINOLYTIQUES	DURÉE (EN HEURES) nécessaire à la dissolution de l'unité de test, en présence de 0 c. c. 05 de sérum de		
	HOMME	CHEVAL	LAPIN
<i>Proteus</i>	3	2	3
<i>Prodigiosus</i>	7	5	3
<i>Pyocyanique</i>	7	7	6
<i>Choléra</i>	4	5	»

L'étude des tableaux IV, V, VI nous apprend au surplus que, dans chacun des cas dont nous donnons le détail, *l'unité de test a toujours été complètement dissoute, dans les conditions habituelles d'expérience (dix-huit heures à 41°) quel que soit le volume de sérum en action.*

Aussi, nous rappelant que *l'optimum approché est la plus petite quantité de sérum qui, en présence de l'unité tryptique et dans des conditions telles que celle-ci épuise normalement son action, conserve à l'unité de test la propriété de se prendre en un gel solide, en dix minutes, par refroidissement à 20°, nous*

devons conclure que, pour les protéases microbiennes étudiées, les sérums des Mammifères n'ont pas d'*optimum approché*, *a fortiori*, d'*optimum réel*. Au contraire, à partir d'une certaine dose de sérum (0 c. c. 1) nous voyons souvent le sérum *favoriser nettement l'action de la protéase*. Ce phénomène s'observe le mieux avec la protéase de *B. pyocyaneus* et surtout avec la protéase d'un bacille fluorescent, isolé par M. Truche d'un intestin de cheval.

L'action des sérums sanguins des Mammifères sur les protéases microbiennes est donc très différente de celle exercée par ces liquides sur la trypsine. En aucun cas on ne peut parler d'inhibition; toutefois il est facile d'observer une diminution de la valeur de l'unité protéolytique provoquée par la présence de sérum sanguin. Cet affaiblissement, différent selon la protéase, pour un sérum donné et pour une protéase particulière selon le sérum, est loin d'être négligeable. Nous avons essayé dans le tableau VIII de chiffrer la quotité maximum de cet affaiblissement.

TABLEAU VIII.

UNITÉS GÉLATINOLYTIQUES	HOMME		CHEVAL		LAPIN		COBAYE	
	Protéase affaiblie de	Sérum nécessaire à cet affaiblissement	Protéase affaiblie de	Sérum nécessaire à cet affaiblissement	Protéase affaiblie de	Sérum nécessaire à cet affaiblissement	Protéase affaiblie de	Sérum nécessaire à cet affaiblissement
		c. c.		c. c.		c. c.		c. c.
<i>B. Pyocyaneus</i>	2/3	0,07	2/3	0,01	1/2	0,05		
<i>M. Prodigiosus</i>	1/2	0,04	2/3	0,04	1/2	0,17		
<i>Proteus M.</i>	1/3	0,13	1/2	0,07	1/4	0,14		
<i>Vibron cholérique</i> . .	1/4	0,02	1/2	0,08	1/2	0,12	1/2	0,06

Faisons, par exemple, la valeur de la protéase égale à 1; l'affaiblissement varie entre le 1/4 et les 2/3 de cette valeur. Il va sans dire que l'on ne doit attribuer à l'expression arithmétique de la diminution d'activité des protéases qu'une valeur représentative approchée.

Toute relative qu'elle soit, cette diminution existe ; elle n'est pas négligeable.

Le tableau VIII est formé d'après les résultats d'expériences d'une durée de dix-huit heures, à 41°.

IV

CONCLUSIONS

1° Il y a une différence considérable dans l'intensité de la protéolyse de la gélatine en milieu *trypsine-sérum sanguin* et la protéolyse de cette substance en milieu *protéase bactérienne-sérum sanguin*. Dans le premier cas, pour une quantité suffisante de sérum, la protéolyse peut être nulle ou sensiblement nulle ; dans le second cas, même en présence d'un excès de sérum, la protéolyse a toujours lieu. Les sérums sanguins de l'homme, du cheval, du lapin, du cobaye ne possèdent donc pas, vis-à-vis des protéases bactériennes, les propriétés inhibitrices qu'ils manifestent sur la trypsine du pancréas des Mammifères.

2° L'action du sérum sanguin sur les protéases des *B. Pyocyaneus*, *M. proligiosus*, *M. Proteus*, *Vibrio Cholerae* (Zarizin) se caractérise par la diminution du pouvoir enzymatique de ces protéases et par un ralentissement de leur action.

3° Par ordre d'action empêchante les trois sérums que nous avons particulièrement étudiés se classent comme suit : sérum de cheval, sérum humain, sérum de lapin.

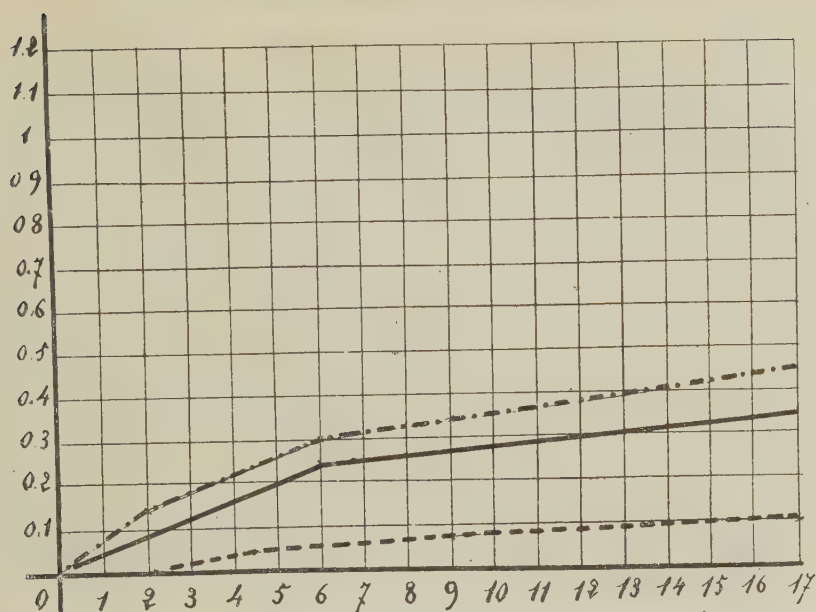
4° A partir d'un certain volume de sérum (0 c.c 1, 0 c.c. 2) l'action empêchante sur les protéases disparaît ; elle fait place à une action favorisante.

15 juillet 1919.

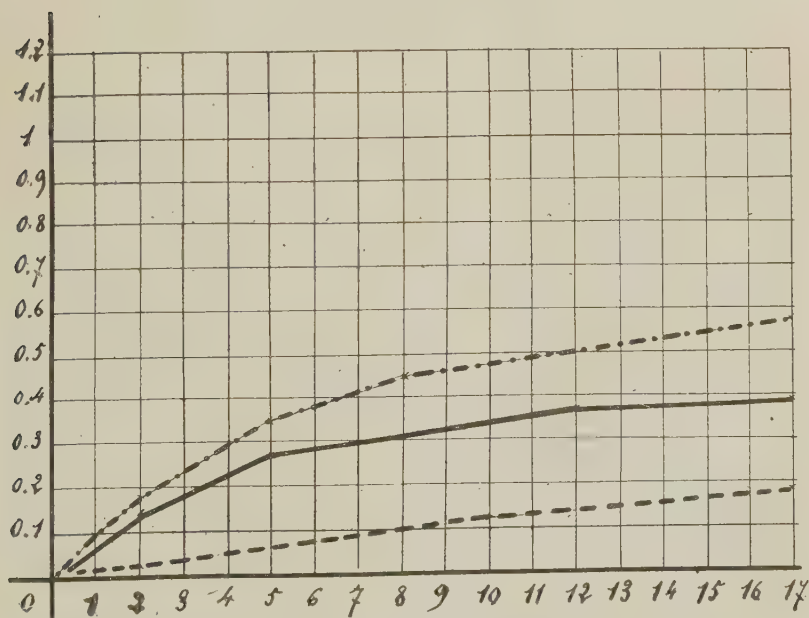
EXPLICATION DES GRAPHIQUES

Graphiques 1, 2, 3, 4. — Les chiffres portés en ordonnées expriment des centimètres cubes de NaOH N/10 ; les chiffres en abscisses expriment, en heures, le temps de digestion.

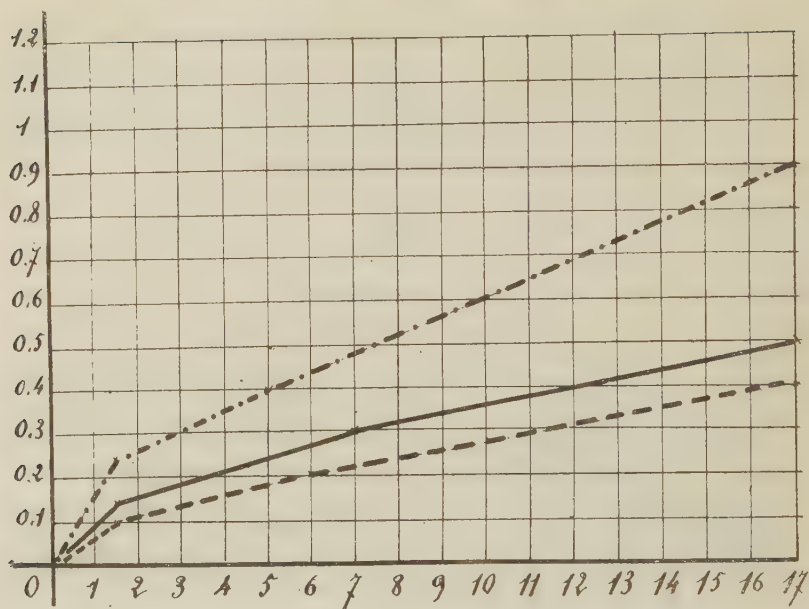
La ligne pleine représente la courbe de l'acidité libre ; la ligne en traits discontinus représente l'acidité libérée par le formol ; la ligne formée par une succession de traits et de points représente l'acidité totale.



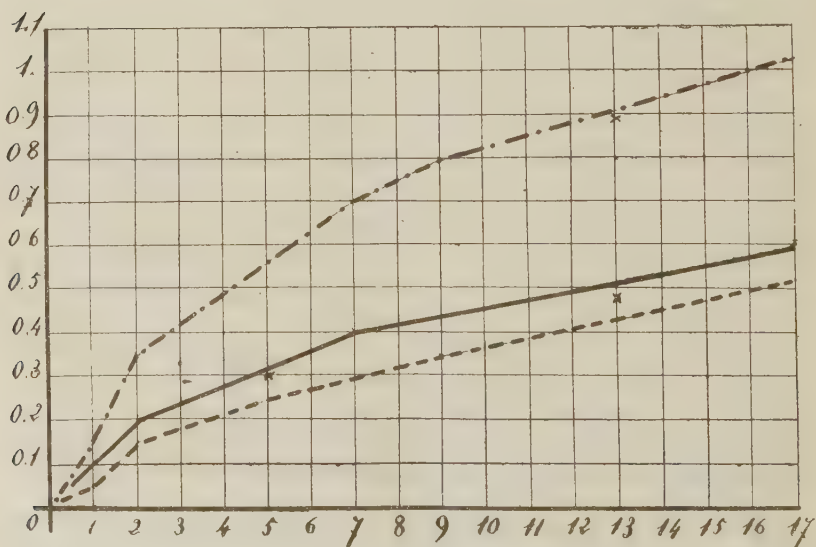
GRAPHIQUE 1. — Protéolyse de la gélatine par l'unité gélatinolytique du *B. pyocyaneus*.



GRAPHIQUE 2. — Protéolyse de la gélatine par l'unité gélatinolytique du *Proteus M.*

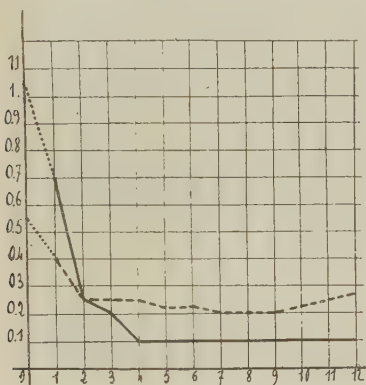


GRAPHIQUE 3. — Protéolyse de la gélatine par l'unité gélatinolytique du *M. Prodigiosus*.

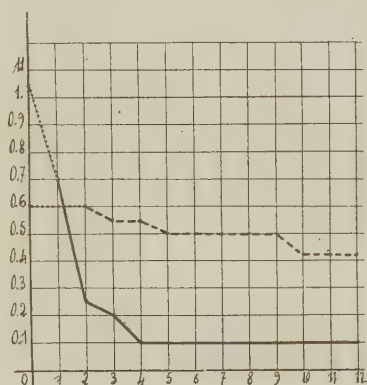


GRAPHIQUE 4. — Protéolyse de la gélatine par l'unité gélatinolytique du *V. cholerae* (Zarizin).

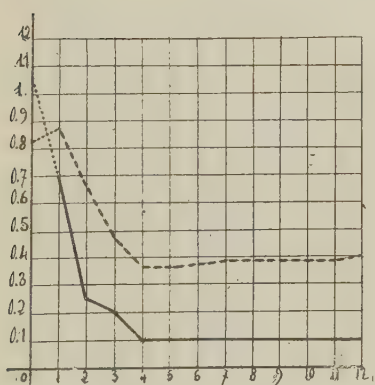
Graphiques 5 à 16. — Dans chaque graphique, les chiffres portés en ordonnées expriment des centimètres cubes de solution N/10 de NaOH; les chiffres portés en abscisses expriment des centièmes de centimètre cube de sérum sanguin. Le trait plein représente l'action du sérum sur l'unité tryptique; le trait discontinu représente l'action du sérum sur la protéase microbienne.



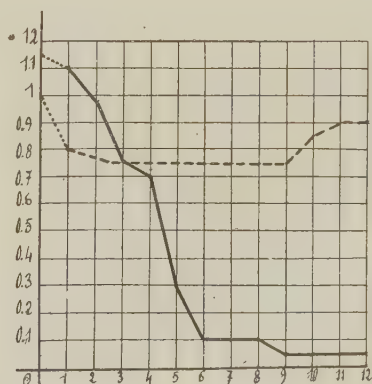
GRAPHIQUE 5. — Action du sérum humain sur l'unité tryptique et sur l'unité gélatinolytique du *B. pyocyanique*.



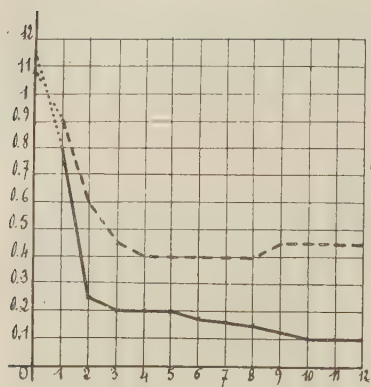
GRAPHIQUE 6. — Action du sérum humain sur l'unité tryptique et sur l'unité gélatinolytique du *Proteus M.*



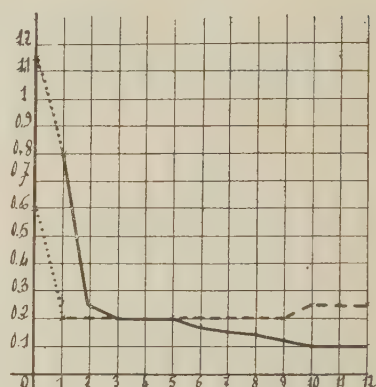
GRAPHIQUE 7. — Sérum humain sur l'unité tryptique et sur l'unité gélatinolytique du *M. Prodigiosus*.



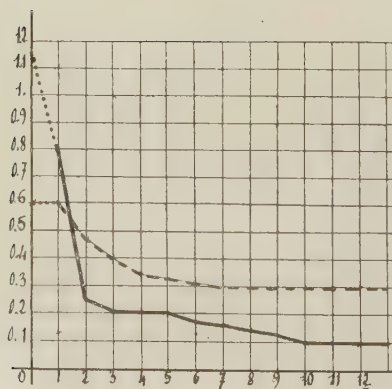
GRAPHIQUE 8. — Sérum humain sur l'unité tryptique et sur l'unité gélatinolytique du *V. cholerae*.



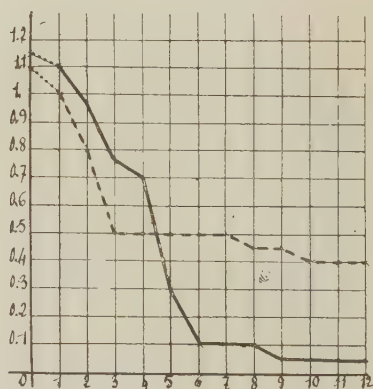
GRAPHIQUE 9. — Action du sérum de cheval sur l'unité tryptique et sur l'unité gélatinolytique du *M. Prodigiosus*.



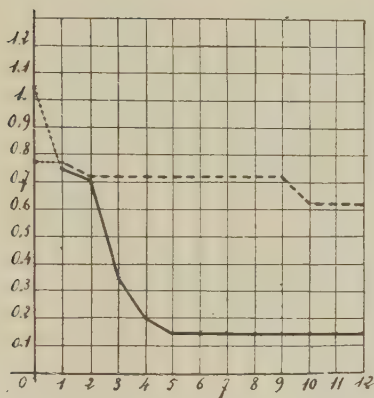
GRAPHIQUE 10. — Action du sérum de cheval sur l'unité tryptique et sur l'unité gélatinolytique du *B. pyocyaneus*.



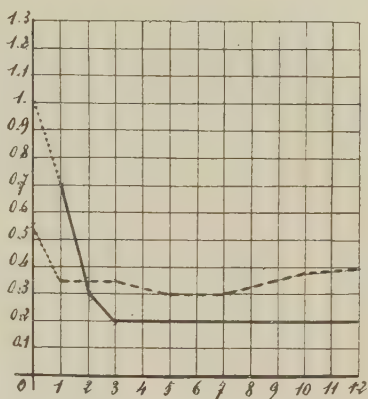
GRAPHIQUE 11. — Action du sérum de cheval sur l'unité tryptique et sur l'unité gélatinolytique du *Proteus M.*



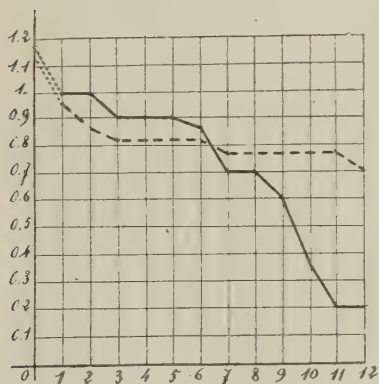
GRAPHIQUE 12. — Action du sérum de cheval sur l'unité tryptique et sur l'unité gélatinolytique du *V. cholerae*.



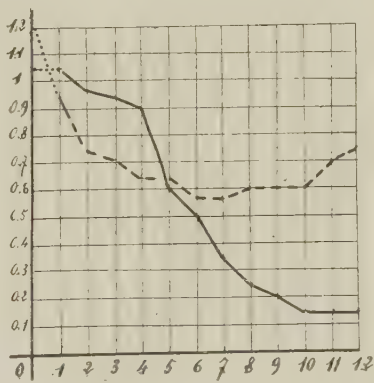
GRAPHIQUE 13. — Action du sérum de lapin sur l'unité tryptique et sur l'unité gélatynolytique du *Proteus M*.



GRAPHIQUE 14. — Action du sérum de lapin sur l'unité tryptique et sur l'unité gélatynolytique du *B. pyocyaneus*.



GRAPHIQUE 15. — Action du sérum de lapin sur l'unité tryptique et sur l'unité gélatynolytique du *vibron cholérique*.



GRAPHIQUE 16. — Action du sérum de cobaye sur l'unité tryptique et sur l'unité gélatynolytique du *vibron cholérique*.

L'INFECTION, LA SENSIBILISATION ET L'IMMUNITÉ DANS LA LYMPHANGITE ÉPIZOOTIQUE DES SOLIPÈDES

par A. BOQUET et L. NÈGRE.

A. — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

I. — HISTORIQUE

Les premières tentatives de transmission expérimentale de la lymphangite épizootique furent effectuées, à la fois sur le cheval (2 sujets), le mulet (3 sujets) et l'âne (1 sujet) par Delamotte et Tixier qui inséraient dans un godet sous-cutané le contenu des boutons spécifiques, ou pratiquaient des piqûres multiples de la peau, à l'aide de la lancette chargée de pus. Les résultats de ces expériences sont brièvement exposés par les auteurs : les plaies opératoires se cicatrisent rapidement, puis, au bout d'un temps variable, 39 jours, 41 jours, 44 jours, 64 jours, tantôt les cicatrices s'ouvrent et prennent un aspect ulcéreux, tantôt un nodule se développe à leur niveau, grossit et s'abcède. Dans le voisinage, quelques abcès apparaissent ensuite qui guérissent en deux ou trois mois après cautérisation. Une seule fois, Delamotte et Tixier parvinrent à reproduire une lymphangite généralisée, typique, dont l'évolution fut si grave que le sujet dut être abattu.

L'inoculation de leur propre pus à des chevaux malades (8 expériences) ou de pus provenant d'autres sujets infectés resta sans effet.

Les mêmes expérimentateurs échouèrent dans leurs tentatives de transmission de la lymphangite épizootique par inoculation de pus au lapin ; mais ils affirment avoir obtenu, sur le chien, des résultats positifs, après une incubation de 25 jours environ. Il semble probable que le virus inoculé contenait des bacilles de la morve à l'action desquels le chien est sensible.

En Italie, Rivolta et Micellone (1883) observent qu'à la suite d'inoculations de pus spécifique au cheval, « les cryptocoques se multiplient prodigieusement au point d'inoculation où ils donnent lieu peu à peu à un bouton, à une tumeur ».

Chénier, Bassi, Chaurat, Jacoulet, obtinrent également des résultats positifs. Peupion et Boinet (1888) réussirent à reproduire une lymphangite typique par inoculation d'une culture d'un microcoque au quatrième passage. La description des symptômes qu'ils donnent ne laisse aucun doute sur la nature de l'affection transmise; mais il est non moins certain que les microbes injectés, qui poussaient dans le « bouillon de bœuf salé » et le troublaient en 3 jours, n'étaient pas des cryptocoques. La contamination du sujet d'expérience dut s'effectuer par une voie qui échappa aux expérimentateurs.

Arloing, Wiart, Gaspérini, Thiroux et Teppaz et beaucoup d'autres, inoculèrent sans succès, à des chevaux neufs, du pus provenant d'animaux lymphangiteux. Dans quelques cas seulement l'inoculation fut suivie d'un nodule spécifique, qui se résorba rapidement après abcédation.

L'inoculation de cultures de cryptocoques donna à Tokishige, Marcone et San Felice des résultats inconstants. Tokishige observa, sur un seul cheval, l'apparition d'un bouton qui se transforma en abcès dont le pus contenait des cryptocoques.

Par inoculation intra-cutanée et sous-cutanée de cultures pures, Marcone reproduisit, sur le cheval, les boutons de la lymphangite : après une incubation de 25 à 50 jours, la peau s'épaissit, un nodule se forme, puis s'ulcère et suppure. Le pus contient des cryptocoques inclus dans les leucocytes et des cryptocoques libres bourgeonnants. Les lésions restent limitées et leur marche est en relation avec la quantité de culture inoculée.

San Felice obtient des résultats identiques avec une culture de quatrième passage, âgée de 14 jours. Vers le quatrième jour après l'injection virulente, un petit gonflement de la région se dessine et se transforme en une petite tumeur close, dure, qui atteint à la fin de la troisième semaine le volume d'une châtaigne. Le contenu du nodule est riche en cryptocoques typiques.

Enfin, au cours de ces dernières années, Vallée, avec la colla-

boration de Cuvillier et de Rinjard, expérimentant dans les conditions les plus variées et les plus favorables à l'évolution de la maladie, échoua presque toujours dans ses tentatives de transmission.

Notre premier soin, dès que nous eûmes obtenu la culture du cryptocoque de Rivolta sous la forme de colonies visibles, fut d'en éprouver le pouvoir pathogène par inoculation au cheval et de reproduire expérimentalement la lymphangite épizootique. Les résultats de nos expériences, exposés dans ce mémoire, précisent les conditions de l'extension et de la généralisation de la maladie et, en démontrant l'influence aggravante des réinoculations successives sur la tumeur locale initiale, permettent d'expliquer les constatations, en apparence contradictoires, faites par les différents auteurs dont nous venons de résumer les travaux.

II. — L'INFECTION

Dans une première série d'expériences pratiquées sur un cheval, nous sommes parvenus à reproduire une lymphangite typique par inoculation sous-cutanée d'une culture de cryptocoques de premier passage. Les produits inoculés consistaient en une émulsion de petites colonies composées de filaments mycéliens, de formes levures, et de quelques cryptocoques qui n'avaient pas bourgeonné. Les inoculations furent pratiquées à plusieurs reprises sur le même sujet; seules les premières donnèrent un résultat positif.

Dans une seconde série d'essais, un cheval neuf fut inoculé sous la peau, en six points, avec une émulsion de culture de cryptocoques de huitième passage, dont la souche avait été isolée 11 mois auparavant. Les lésions observées consistèrent en petites tumeurs abcédées qui apparurent après une incubation de vingt jours et se cicatrisèrent vers le troisième mois. Une seule fois, une corde filiforme prit naissance au niveau d'un nodule, persista pendant plusieurs semaines et disparut sans s'ulcérer.

Nous n'avons donc pas obtenu, dans cette seconde série d'essais, l'extension et la généralisation des lésions, observées précédemment.

Pour expliquer cette différence, nous pouvions incriminer, dans la première série, les rares cryptocoques introduits avec la culture de premier passage et émettre l'hypothèse que leur virulence était plus grande que celle des formes filamenteuses; ou attribuer les résultats incomplets de la deuxième série à l'affaiblissement du champignon repiqué successivement 8 fois sur les milieux artificiels.

Il convenait d'apporter des précisions nouvelles et, dans cette intention, nous avons effectué, dans une troisième série, de nombreuses tentatives de transmission expérimentale de la lymphangite épizootique.

*
* *

Sur 22 chevaux inoculés, 20 ont présenté une lymphangite expérimentale localisée ou généralisée et 2 se sont montrés complètement réfractaires.

Les inoculations ont été pratiquées avec des émulsions de cultures entretenues dans des conditions toujours identiques de milieu (gélose glucosée à 5 p. 100, peptonée 1 p. 100) et de température (35°). Des essais comparatifs nous ont montré que, jusqu'au septième passage, au moins, la virulence de ces cultures ne diminue pas.

Tous les résultats que nous avons obtenus sont semblables et nous décrivons seulement, dans l'exposé qui suit, les plus caractéristiques d'entre eux.

INOCULATIONS SOUS-CUTANÉES

CHEVAL N° 7.

5 septembre 1918. — 1^{re} inoculation sous-cutanée (nuque) de 0 gr. 01 de culture de deuxième passage, en émulsion dans 1 c. c. d'eau physiologique :

A l'œdème immédiat provoqué par l'injection, succède le deuxième jour un épaissement de la peau, du volume d'une amande, qui s'efface peu à peu et disparaît vers le vingtième jour.

27 septembre. — 2^e inoculation sous-cutanée (encolure) de 0 gr. 01 de culture de deuxième passage émulsionnée dans 1 c.c. d'eau physiologique.

1 ^{re} INOCULATION.	2 ^e INOCULATION.
27 au 30 septembre : 0.	OEdème, puis petit nodule.
30 septembre au 11 octobre : 0.	Le nodule diminue, puis s'efface.
11 octobre : Un petit nodule sous-cutané apparaît au point d'inoculation, sans réaction œdémateuse de la peau.	0
12 au 23 octobre : Le nodule grossit et atteint le volume d'une bille, puis devient de plus en plus sensible et adhère à la peau qui s'épaissit.	0

23 octobre. — 3^e inoculation sous-cutanée (épaule) de 0 gr. 03 de même culture de deuxième passage, émulsionnée dans 5 c.c. d'eau physiologique.

1 ^{re} INOCULATION.	2 ^e INOCULATION.	3 ^e INOCULATION.
23 au 31 octobre : Le nodule augmente de volume, atteint les dimensions d'un gros œuf et adhère fortement à la peau. A sa base, prend naissance un mince cordon de 3 à 4 millimètres de diamètre et long de 0 m. 30 environ.	0	Les premiers jours, œdème et abcès.
1 ^{er} au 7 novembre : Les cordes s'effacent, puis reparaissent.	Le 4 novembre, la peau s'épaissit dans la région inoculée.	0
11 novembre : La tumeur devient fluctuante et s'ouvre. Le pus qui s'en écoule contient des cryptocoques typiques. Les cordes s'effacent de nouveau.	L'œdème de la peau diminue légèrement.	0
21 novembre : Les cordes réapparaissent et un œdème entoure la tumeur initiale.	La lésion grossit de nouveau.	0
21 novembre au 15 décembre : Des nodules se forment sur le trajet de la corde et deviennent fluctuants.	La tumeur s'abcède et s'ouvre.	0
15 décembre 1918 au 15 janvier 1919 : Les ulcères suppurent et la cicatrisation débute sur certains d'entre eux. Un nodule spécifique se forme dans la région du canon antérieur droit, s'ouvre et suppure.	La suppuration diminue et la lésion ulcérée se cicatrise progressivement. Une fine corde apparaît avec un nodule qui reste clos.	0

15 janvier au 22 février : Les lésions suppurent peu et sont, en partie, cicatrisées. Le 148 ^e jour, on observe à la face interne de la paupière inférieure gauche (angle interne de l'œil) un nodule ulcéré dont le muco-pus contient de nombreux cryptocoques.	Résorption et cicatrisation.	0
1 ^{er} avril : Toutes les lésions sont cicatrisées sauf l'ulcération de la paupière inférieure qui suppure pendant trois mois encore.	0	0

CHEVAL N° 6.

23 octobre 1918. — 1^{re} inoculation sous-cutanée de 0 gr. 05 de culture de cryptocoques de deuxième passage, émulsionnée dans 5 c.c. d'eau physiologique :

L'injection provoque un œdème immédiat suivi d'un abcès stérile (8^e jour). L'abcès se cicatrise et fait place à une induration cutanée qui s'efface vers le quarantième jour.

11 décembre. — 2^e inoculation sous-cutanée (en un point différent) de 0 gr. 05 de culture de cryptocoques de troisième passage.

 1^{re} INOCULATION.

13 décembre : Un petit noyau sous-cutané apparaît.

13 au 17 décembre : Le nodule reste stationnaire.

17 au 23 décembre : Le noyau grossit et atteint le volume d'une amande.

3 janvier 1919 : La tumeur atteint le volume du poing et devient fluctuante. De fines cordes lymphatiques apparaissent.

3 janvier au 7 février : La tumeur grossit et l'ulcère suppure abondamment. Les cordes disparaissent.

7 au 10 février : Les cordes réapparaissent, puis s'effacent de nouveau et la tumeur grossit.

 2^e INOCULATION.

Volumineux œdème sensible d'où partent des cordes lymphatiques de la grosseur du doigt et longues de 30 centimètres environ.

L'œdème se condense et un abcès stérile se forme.

L'abcès se vide et se cicatrise complètement.

Le 28 décembre : Léger œdème de la peau, de la grosseur d'une amande dans la région inoculée.

Un nodule se forme et devient peu à peu fluctuant.

Le noyau, des dimensions d'une petite amande, reste stationnaire.

11 février 1919. — 3^e inoculation de 0 gr. 04 d'une culture de cryptocoques de quatrième passage.

1 ^{re} INOCULATION.	2 ^e INOCULATION.	3 ^e INOCULATION.
11 au 17 février : Les lésions restent stationnaires.	Le nodule s'abcède et s'ouvre.	Oedème, puis abcès stérile.
Dans la suite, la suppuration diminue et la tumeur régresse peu à peu. La guérison est complète en cinq mois et demi.	La guérison est complète en trois mois et demi.	Rien ne fut observé dans les quatre mois qui suivirent.

CHEVAL ^{noir}N° 40.

23 décembre 1918. — 1^{re} inoculation sous-cutanée de 0 gr. 01 de culture de cryptocoques de troisième passage émulsionnée dans 1 c. c. d'eau physiologique :

Jours suivants. — Oedème, puis abcès qui se résorbe sans laisser de traces.

7 février 1919. — Léger oedème au point d'inoculation.

7 au 14 février. — La tuméfaction grossit et s'indure. Elle forme une masse allongée, peu épaisse, de 5 à 6 cent. de long.

14 février au 12 mars. — La tumeur se résorbe incomplètement et reste dure.

12 mars. — 2^e inoculation de 1 goutte de pus cryptococcique diluée dans 1 c. c. d'eau physiologique.

1 ^{re} INOCULATION.	2 ^e INOCULATION.
12 mars au 2 mai : La lésion reste stationnaire.	12 au 15 mars : Léger oedème qui se résorbe entièrement.
2 mai : La tumeur n'est pas modifiée, mais à sa partie inférieure prend naissance une fine corde dure, de 20 centimètres de long environ, qui présente deux renflements du volume d'une noisette.	25 mars : La peau s'épaissit dans la région inoculée.
2 au 8 mai : La tumeur initiale devient fluctuante, ainsi que les noyaux de la corde, et les abcès s'ouvrent.	31 mars : L'épaississement cutané a augmenté (petite amande).
8 mai au 15 juin : La suppuration est peu abondante et la cicatrisation des nodules commence.	31 mars au 11 avril : Le nodule grossit et atteint le volume d'un œuf.
	11 avril au 1 ^{er} mai : La tumeur s'abcède et s'ulcère.
	1 ^{er} mai au 15 juin : L'ulcération diminue peu à peu.

INOCULATIONS ENDO-VEINEUSES

Sur quatre tentatives de transmission de la lymphangite par injection endoveineuse de cultures de cryptocoques, les lésions spécifiques n'ont apparu qu'une seule fois et dans des condi-

tions telles qu'il est difficile d'en rapporter, avec certitude, la cause à l'inoculation pratiquée.

EXPÉRIENCE I.

Un cheval reçoit dans la jugulaire, le 19 août 1918, 0 gr. 05 de culture de cryptocoques de deuxième passage.

Du 19 août au 5 septembre. — Aucune modification. Réaction thermique nulle.

Le 5 septembre, l'animal présente une forte boiterie du membre postérieur droit. La partie inférieure du membre est engorgée et, dans le creux du paturon, apparaît un suintement séro-sanguinolent. La sérosité contient de rares cryptocoques libres à paroi simple ou dédoublée.

Du 5 septembre au 7 septembre, l'œdème et le suintement diminuent, mais le membre postérieur s'œdématie à son tour et devient très douloureux.

Du 7 septembre au 27 septembre, les symptômes observés sur le membre postérieur gauche disparaissent sans qu'aucune lésion cryptococcique ne se soit manifestée. Au contraire, sur le membre opposé, dans les régions de la jambe et du boulet, se forment plusieurs petits ulcères riches en cryptocoques typiques.

Dans la suite, ces ulcères se cicatrisèrent. Le 21 octobre c'est-à-dire deux mois après l'inoculation, la guérison était complète.

EXPÉRIENCE II. — Inoculation endoveineuse antérieure à l'inoculation sous-cutanée.

27 septembre. — *Inoculation à un cheval (dans la jugulaire) de 0 gr. 05 de culture de cryptocoques (2^e passage).*

Du 27 septembre au 23 octobre, aucun symptôme n'apparaît.

23 octobre. — *1^{re} inoculation sous-cutanée (nuque) de 0 gr. 05 de culture de cryptocoques (2^e passage).*

Du 23 octobre au 30 octobre, un œdème se forme dans la région de la nuque et fait place à un abcès stérile du volume d'un œuf. Les jours suivants, l'abcès s'ouvre puis se cicatrise complètement.

Le 2 décembre, soit après une incubation de quarante jours, on perçoit au point d'inoculation sous-cutanée un petit nodule qui augmente rapidement de volume.

11 décembre. — 2^e inoculation sous-cutanée (région moyenne de l'encolure) de 0 gr. 05 de culture de cryptocoques (3^e passage).

RÉSULTATS DE LA 1^{re} INOCULATION
SOUS-CUTANÉE.

11 décembre 1918 au 10 janvier 1919 : La tumeur atteint le volume du poing; le 23 décembre, elle donne naissance à une fine corde qui se prolonge jusque vers la base de l'encolure.

10 au 15 janvier : La tumeur grossit encore et devient fluctuante.

15 au 31 janvier : La tumeur du volume des deux poings donne issue à un pus riche en cryptocoques. La corde lymphatique reste stationnaire.

RÉSULTATS DE LA 2^e INOCULATION
SOUS-CUTANÉE.

OEdème, puis abcès stérile qui s'ouvre et se cicatrise. Un épaissement de la peau persiste qui, le 10 janvier, augmente et devient oedémateux.

Nodule des dimensions d'une petite amande.

31 janvier. — 3^e inoculation sous-cutanée (commissure droite des lèvres) de 0 gr. 05 de culture de cryptocoques (3^e passage).

RÉSULTATS
DE LA 1^{re} INOCULATION
SOUS-CUTANÉE.

1^{er} au 10 février : La corde devient oedémateuse et augmente considérablement de volume (7 à 8 centimètres de diamètre).

10 au 19 février : Des nodules se forment sur le trajet de la corde indurée.

20 février : La corde et la tumeur initiale s'entourent d'un volumineux oedème.

22 février : *Idem*.

22 février au 10 mars : Les lésions s'aggravent. Elles occupent toute la longueur de l'encolure et s'étendent sur une largeur de 8 à 10 centimètres, formant une masse indurée, criblée de nodules et d'abcès.

RÉSULTATS
DE LA 2^e INOCULATION
SOUS-CUTANÉE.

Le nodule grossit et atteint les dimensions d'un œuf.

Stationnaire.

La tumeur devient fluctuante.

La tumeur s'ouvre et suppure (cryptocoques dans le pus).

Ulcération et suppuration.

RÉSULTATS DE LA
3^e INOCULATION
SOUS-CUTANÉE.

OEdème qui se résorbe ensuite.

0

0

0

0

11 mars. — *Inoculation sous la peau de la commissure gauche des lèvres de six gouttes de pus prélevé dans les abcès de l'encolure.*

Du 11 mars au 4^{er} juin. — 1^{re} *inoculation sous-cutanée* : Les lésions deviennent énormes, occupent près de la moitié de l'encolure criblée d'abcès et d'ulcères qui suppurent abondamment. Des abcès secondaires apparaissent dans les régions de l'abdomen et de la cuisse ; néanmoins l'état général du malade n'est pas troublé.

2^e *inoculation sous-cutanée*. — L'ulcération persiste sans s'aggraver sensiblement.

3^e *inoculation sous-cutanée*. — Aucun symptôme.

4^e *inoculation sous-cutanée* (pus). — Aucun symptôme. Un cheval témoin inoculé dans les mêmes conditions, avec le même pus, a présenté un nodule spécifique.

EXPÉRIENCE III. — Inoculation endoveineuse postérieure à l'inoculation sous-cutanée.

23 décembre. — *Inoculation à un cheval, sous la peau de la nuque, de 0 gr. 05 de culture de cryptocoques (3^e passage).*

14 janvier 1919. — *Inoculation endoveineuse de 0 gr. 05 de la même culture.*

20 janvier. — *Id.*

27 janvier. — *Id.*

Le 5 février. — Dans la région de la nuque, au point de l'inoculation sous-cutanée, on observe un léger épaissement de la peau.

Du 5 février au 7 mars, l'épaississement cutané se condense en un nodule qui grossit lentement et finit par atteindre le volume d'un petit œuf.

Le 8 mars, deux fines cordes partent du bouton et s'étendent sur toute la longueur de l'encolure.

Le 15 mars, un nodule sous-cutané apparaît sur la face opposée de l'encolure.

Du 15 mars au 20 avril, une grosse tumeur ganglionnaire se forme dans la région du poitrail ; en outre, un ulcère se creuse sur la face externe du paturon postérieur droit. Le pus qui s'enécoule contient des cryptocoques, comme le pus du nodule initial.

Du 20 avril au 20 mai, la lésion du paturon se cicatrise, l'ulcère initial se comble et les cordes s'effacent.

Du 20 mai au 10 juin, les lésions ouvertes sont cicatrisées; la tumeur du poitrail s'est résorbée en partie; les cordes ne sont plus signalées que par un léger rebroussement des poils à leur niveau.

III. — INCUBATION

L'incubation apparente de la lymphangite épizootique, c'est-à-dire le temps qui sépare l'inoculation de l'apparition du nodule spécifique, varie d'un sujet à l'autre dans des limites fort étendues.

Le tableau suivant indique que ni la quantité de virus injecté, ni le nombre de passages qu'il a subis sur les milieux artificiels, ni l'abondance du tissu conjonctif et des vaisseaux lym-

NUMÉROS DES SUJETS d'expé- rience	ORIGINE ET NOMBRE DE PASSAGES de la culture ino- culée.	° QUANTITÉ DE CULTURE inoculée.	RÉGION INOCULÉE	DURÉE de L'INCUBA- TION
1	A ₁	0 gr. 005 (environ)	Diverses régions du corps.	45 jours.
2	A ₈	0 gr. 005 (environ)	Id.	25 —
7	B ₂	0 gr. 01	Nuque.	37 —
27	C ₃	0 gr. 02	Encolure.	33 —
38	C ₁	0 gr. 02	Id.	36 —
43	D ₂	0 gr. 05	Nuque.	40 —
45	D ₂	0 gr. 05	Id.	60 —
46	D ₂	0 gr. 05	Id.	51 —
40	D ₃	0 gr. 01	Id.	35 —
42	D ₄	0 gr. 05	Encolure.	45 —
24	E ₄	0 gr. 12	Id.	30 —
43	E ₁	0 gr. 025	Id.	28 —
46	E ₄	0 gr. 05	Id.	39 —
47	E ₄	0 gr. 05	Id.	51 —
49	E ₃	0 gr. 05	Nuque.	44 —
53	F ₇	0 gr. 01	Divers points du corps.	18 —
54	F ₇	0 gr. 01	Id.	18 —
53	Pus A	1/10 de c. c.	Id.	28 —
54	Pus A	1/10 de c. c.	Id.	27 —
56	Pus B	1/10 de c. c.	Id.	14 —

phatiques dans la région inoculée, n'exercent une influence quelconque sur la durée de cette période.

Par contre, l'incubation est sensiblement plus courte après inoculation de pus cryptococcique.

IV. — AGGRAVATION ET EXTENSION DES LÉSIONS

Il ressort des précédentes expériences et de l'observation des réactions focales consécutives aux réinjections de cultures de cryptocoques, que l'aggravation et l'extension de la lymphangite sont étroitement liées aux réinfections par le microbe spécifique.

L'injection sous-cutanée unique d'une émulsion de cultures virulentes provoque la formation immédiate d'un œdème plus ou moins important, accompagné, ou non, d'abcès, suivant la quantité de virus introduite. Au bout de quelques jours, ces phénomènes inflammatoires s'effacent complètement, et, après une période d'incubation variable, font place à un petit noyau. Dans la suite, le nodule s'accroît jusqu'à atteindre le volume du poing; dans un dernier stade, la tumeur s'abcède et s'ulcère. Exceptionnellement, elle donne naissance à une fine corde lymphatique qui se résorbe en quelques jours.

L'expérience confirme ainsi la spécificité des cultures inoculées; mais elle ne reproduit ni les lésions des vaisseaux lymphatiques, ni les foyers multiples observés dans la maladie naturelle.

Lorsqu'une deuxième inoculation virulente est pratiquée 22 à 50 jours après la première, l'activité du nodule initial augmente subitement, la lésion locale s'aggrave et de véritables cordons lymphatiques se dessinent. Bientôt des renflements arrondis apparaissent sur ces cordes qui prennent l'aspect moniliforme caractéristique. A leur tour, mais moins rapidement que la tumeur primitive, ces nodules s'abcèdent, s'ulcèrent et produisent d'autres cordons, sur le trajet desquels éclosent de nouveaux foyers. On assiste alors à une véritable généralisation de la maladie expérimentale et à l'exacte reproduction du tableau symptomatologique de la lymphangite épizootique.

Les inoculations endoveineuses pratiquées après l'inoculation sous-cutanée aggravent peu la lésion initiale.

LES RÉACTIONS FOCALES.

Les expérimentateurs qui ont essayé de traiter la lymphangite épizootique par les méthodes biologiques ont fort bien mis en évidence les phénomènes réactionnels qui apparaissent, à la suite des injections de pus spécifique, dans les lésions cryptococciques en cours d'évolution. Velu, en particulier, préoccupé de rapprocher ses observations des travaux de Wright sur les opsonines et la bactériothérapie, décrit « une phase négative intense et immédiate », déterminée par l'injection de pyovaccin (contenu des boutons spécifiques traités par l'éther) et au cours de laquelle tous les symptômes s'aggravent, la suppuration augmente, « les plus gros noyaux non abcédés mûrissent ; quelques-uns, gonflés de pus, s'ouvrent spontanément ; l'hyper-sensibilité naturelle des lésions est notablement exagérée, les cordes et les abcès sont noyés dans un œdème plus ou moins abondant. Cette phase dure 3 ou 4 jours, quelquefois 5 ou 6. Son intensité varie avec la dose de vaccin employé ». Une phase positive d'amélioration des symptômes et de réparation des lésions succède à cette phase négative.

L'évolution de la maladie expérimentale et de la maladie naturelle présente une véritable *alternance d'une série de périodes d'aggravation et de résolution* qui correspondent aux précédentes phases négative et positive. La première se traduit par l'apparition d'œdèmes autour des nodules, l'éclosion de nouveaux abcès et l'extension des lésions. Dans la seconde, au contraire, ces symptômes s'atténuent et les lésions progressent vers la guérison.

Tous ces phénomènes constituent de véritables *réactions focales* provoquées par des auto-réinoculations, ou par des troubles organiques qu'il est difficile de préciser (suppurations secondaires, affections intercurrentes diverses, influence de la chaleur, du refroidissement, etc.).

L'expérience montre encore que les animaux inoculés deviennent peu à peu réfractaires aux réinoculations virulentes et s'immunisent. Néanmoins, les sujets infectés manifestent leur sensibilité aux réinjections d'antigène par des réactions focales plus ou moins prolongées.

Lorsqu'on réinjecte des cryptocoques à un sujet porteur de deux ulcères obtenus par des inoculations de cultures virulentes répétées à moins de 50 jours d'intervalle, une réaction se produit en même temps dans les deux foyers et les deux lésions s'aggravent simultanément. Il n'existe donc aucune relation entre la nature et l'intensité de cette réaction et l'ancienneté des lésions.

Les réactions focales qui se manifestent ainsi sous l'influence des réinjections de cryptocoques ne sont pas dues à une action spécifique de ces microbes. Bridré, Nègre et Trouette avaient observé des manifestations identiques dans les foyers, à la suite d'injections thérapeutiques d'arsénobenzol pratiquées sur des lymphangiteux. « Si la maladie est ancienne et la plaie initiale située dans les régions inférieures des membres, l'effet de l'injection se manifeste souvent par l'apparition de nouveaux boutons sur le trajet des lymphatiques malades. Les boutons existants s'abcèdent et se vident. On dirait que l'organisme réagit en expulsant les parasites et un observateur non prévenu pourrait prendre ces phénomènes de défense pour une aggravation du mal. »

Nous avons obtenu des résultats comparables en substituant aux cultures de cryptocoques des émulsions de levures non pathogènes (*Saccharomyces ellipsoïdeus*) ou des cultures stérilisées de bacilles de Preiz-Nocard ou même un sérum antilevure et un sérum anticryptococcique. Mais l'action des microbes spécifiques est plus régulière et plus intense.

V. — GÉNÉRALISATION DE L'INFECTION

Lorsque, au cours de l'infection naturelle ou de l'infection expérimentale, on pratique des injections sous-cutanées de cultures stérilisées de cryptocoques, à des doses supérieures à 0 gr. 05, on observe, à bref délai (2 à 8 jours), la formation de nodules nouveaux qui apparaissent en des points parfois très éloignés des foyers primitifs.

Ces nodules sont de deux sortes : Les uns occupent toute l'épaisseur de la peau ; ils ont les dimensions d'un noyau de cerise ou d'une bille, s'abcèdent très rapidement puis s'ulcè-

rent; les plaies persistent et suppurent pendant un temps variable, mais généralement fort long. Les autres, au contraire, se traduisent d'abord par une petite plaque d'œdème cutané de 3 à 10 millimètres de diamètre, au niveau de laquelle les poils se redressent. L'épiderme se desquame ensuite; la plaie suppure pendant quelques jours sans s'approfondir, ni s'ulcérer, puis se cicatrise.

Les deux variétés de nodules apparaissent simultanément sur les sujets infectés et dans les points les plus divers (membres, côtes, dos, encolure, face, lèvres, conjonctive palpébrale). Dans un cas, à la suite d'une injection massive (3 grammes de culture), pratiquée sur un cheval porteur d'une seule tumeur cryptococcique à l'encolure, nous avons observé, au cours de la semaine qui suivit, une véritable éruption généralisée de 56 boutons des deux types.

Les mêmes phénomènes de généralisation se manifestent parfois au cours du traitement de la lymphangite épizootique par des injections intraveineuses de sérum anticryptococcique.

VI. — SENSIBILISATION

1° DIMINUTION DE LA PÉRIODE D'INCUBATION DES NODULES CONSÉCUTIFS A DES RÉINOCULATIONS VIRULENTES. — Le tableau ci-après met d'abord en évidence d'importantes différences de la sensibilité

NUMÉRO DES SUJETS d'expérience	INTERVALLE entre la 1 ^{re} et la 2 ^e inoculation	DURÉE DE L'INCUBATION		INTERVALLE entre la 1 ^{re} et la 3 ^e inoculation	DURÉE DE L'INCUBATION de la 3 ^e inoculation
		après la 1 ^{re} inoculation	après la 2 ^e inoculation		
7	22 jours.	37 jours.	37 jours.	49 jours.	Inoculation négative.
13	20 —	40 —	30 —	99 —	Id.
15	49 —	60 —	Inoculation négative.	»	»
16	48 —	51 —	47 jours.	111 jours.	Id.
24	15 —	30 —	34 —	48 j. (Inj. de pus.)	17 jours.
27	20 —	33 —	28 —	»	»
38	20 —	36 —	21 —	»	»
40	79 —	45 —	13 j. (Inj. de pus.)	»	»
42	Injection unique.	45 —	»	»	»
47		51 —	21 jours.	43 jours.	24 jours.

individuelle des animaux soumis, dans des conditions identiques, à l'inoculation d'une même culture de cryptocoques. Il montre, en outre, qu'il existe, sur un même sujet, une grande inégalité entre la durée de l'incubation après une première inoculation et la durée de l'incubation après la réinoculation de virus.

Nous réunirons, pour l'examen, ces résultats en quatre groupes :

1^{er} groupe. — *L'intervalle entre la première et la deuxième inoculation est inférieur à 20 jours :*

a) La durée de l'incubation après la première inoculation est de 30 jours ;

b) La durée de l'incubation après la deuxième inoculation est de 34 jours.

2^e groupe. — *L'intervalle entre les inoculations est de 20-25 jours :*

a) La durée de l'incubation après la première inoculation est de :

n° 13	n° 7	n° 32	n° 27
<u>40</u>	<u>37</u>	<u>36</u>	<u>33</u> jours;

b) La durée de l'incubation après la deuxième inoculation est de :

n° 13	n° 7	n° 38	n° 27
<u>30</u>	<u>37</u>	<u>21</u>	<u>28</u> jours.

3^e groupe. — *L'intervalle entre la première et la deuxième inoculation est de 25 à 30 jours :*

L'intervalle entre la première et la troisième inoculation est de 43 jours :

a) La durée de l'incubation après la première inoculation est de 51 jours ;

b) La durée de l'incubation après la deuxième inoculation est de 21 jours ;

c) La durée de l'incubation après la troisième inoculation est de 24 jours.

4^e groupe. — *L'intervalle entre la première et la deuxième inoculation est de 45 à 50 jours :*

a) La durée de l'incubation après la première inoculation est de :

n° 16	n° 15
—	—
51 jours	60 jours

b) La durée de l'incubation après la deuxième inoculation est de :

n° 16	n° 15
—	—
17 jours	Négative.

Jusqu'au cinquantième jour, terme au delà duquel l'immunité est acquise (sauf une exception dont il sera question par la suite), l'incubation des nodules de réinfection est d'autant plus courte que l'intervalle entre les inoculations virulentes est plus grand. Un seuil se rencontre du quinzième au vingt-cinquième jour, en deçà duquel l'incubation des deux nodules est sensiblement de même durée.

Sur des organismes sensibilisés par une première infection, les cryptocoques réinoculés provoquent donc l'édification de plus en plus rapide des lésions spécifiques.

Les nodules de réinfection évoluent avec une rapidité d'autant plus grande vers la guérison qu'ils résultent d'une réinoculation pratiquée plus tardivement après la première. Cependant, ils peuvent être le point de départ de nouvelles cordes lymphatiques et de nouveaux ulcères, quand les porteurs sont soumis à des réinjections virulentes.

2° LA RÉACTION LOCALE DEVIENT DE PLUS EN PLUS INTENSE. — Les manifestations de l'hypersensibilité des animaux lymphangiteux ne sont pas limitées au raccourcissement de la période d'incubation des nodules de réinfection. L'œdème qui s'établit immédiatement après une première inoculation de virus augmente d'étendue après chaque injection. Alors qu'il ne dépasse pas, au début, les dimensions d'un petit œuf, il peut atteindre, après la 3^e ou 4^e injection, le volume du poing et davantage. En outre, l'inflammation s'étend aux vaisseaux lymphatiques voisins et des cordes apparaissent comme dans la maladie naturelle. Cordes et œdème se résorbent en deux ou trois jours et font place à un abcès stérile.

Ces phénomènes (œdème et abcès) observés après la réinoculation de culture virulente, se produisent également à la suite des injections de culture stérilisée de cryptocoques. Dans l'un et l'autre cas, ils ne diffèrent que par leur intensité et leur précocité de ceux que provoque l'inoculation unique de ces mêmes cultures sur un sujet neuf.

Le cryptocoque ne sécrétant pas d'exotoxine, au moins dans les milieux artificiels, il semble que ces réactions précoces soient dues à la libération accélérée des toxines protoplasmiques du parasite. Cette désintégration de plus en plus rapide au cours des réinjections détermine, par un effet de masse, l'aggravation des désordres locaux : œdème, afflux leucocytaire, inflammation fugace des vaisseaux lymphatiques voisins par entraînement dans leur lumière de produits microbiens toxiques, nécrose et suppuration.

3° LA RÉACTION FOCALE DEVIENT DE PLUS EN PLUS PRÉCOCE. — L'intensité et la précocité des réactions focales observées sur les malades, traités par des injections de cultures de cryptocoques, est à la fois fonction du rythme de ces injections et de la dose injectée.

Lorsqu'on inocule à des animaux lymphangiteux une émulsion de virus représentant un poids de culture supérieur à 0 gr. 05, les lésions spécifiques entrent en activité après un délai qui varie de 24 à 48 heures.

Des injections de faibles quantités de cryptocoques (moins de 0 gr. 01) ou d'autolysats de ces microbes en eau éthérée, déterminent des réactions focales après une période d'incubation d'autant plus réduite que les injections sont répétées à des doses plus fortes et à des intervalles plus courts.

Les symptômes qui caractérisent ces réactions focales s'atténuent rapidement quand on emploie des doses faibles. Après la troisième injection ils ne se manifestent même plus. Avec des doses fortes, 0 gr. 01 à 0 gr. 05 au contraire, les phénomènes se renouvellent après chaque introduction de virus et ils persistent plus longtemps. Des doses très fortes (0 gr. 50 à 3 grammes) provoquent des réactions violentes. Répétées dans un délai supérieur à quinze jours, leur action s'affaiblit, puis devient nulle.

VII. — IMMUNITÉ SPÉCIFIQUE

Nous avons souvent entendu dire, par des vétérinaires, qu'une première atteinte de lymphangite ne confère aucune immunité et que la réceptivité des sujets guéris est identique à celle des sujets neufs. Cette affirmation reposait généralement sur des considérations théoriques relatives aux affections chroniques ou sur l'observation de récidives tardives apparues après guérison apparente de la maladie.

En Algérie, les Arabes et les marchands de chevaux, dont la raison pratique est le seul guide, avaient pourtant observé que les animaux guéris d'une première atteinte ne contractaient plus la lymphangite ; et cette opinion est familière à tel point dans la Colonie, que tout sujet porteur des cicatrices anciennes, caractéristiques de la maladie, possède une valeur commerciale supérieure à celle des sujets neufs.

Il convenait donc de vérifier ces opinions contradictoires et d'apporter à l'une d'elles la confirmation de l'expérience. Celle-ci démontre que les animaux malades ou guéris résistent aux inoculations virulentes.

Toutes les tentatives de réinfection expérimentale et les épreuves d'immunité que nous avons effectuées nous ont montré que l'immunité s'établit avec une très grande lenteur après l'inoculation initiale et qu'il existe, sur ce point, des différences individuelles importantes.

Dans quatre essais, les réinoculations de cultures de cryptocoques pratiquées 49, 60, 99 et 111 jours après la première inoculation ont donné des résultats négatifs. La résistance des animaux infectés était complète.

Sur quatre sujets réinoculés le 43^e, le 45^e jour et le 51^e jour une lésion spécifique a évolué.

Le seuil de l'immunité se trouve donc aux environs du cinquantième jour de l'infection.

Deux chevaux neufs se sont montrés complètement réfractaires aux inoculations virulentes répétées à plusieurs reprises, alors que les chevaux témoins, inoculés dans les mêmes conditions, prenaient la lymphangite.

L'immunité dans la lymphangite épizootique consiste en une résistance accrue aux réinoculations d'origine externe. Mais les sujets malades, quelque réfractaires qu'ils soient à l'action des cryptocoques réintroduits du dehors, restent sensibles aux réinfections endogènes par les parasites qu'ils hébergent. C'est ainsi que, fréquemment, lorsque la maladie suit son cours naturel, on assiste à de véritables généralisations jusque dans les périodes ultimes de son évolution.

D'autre part, même lorsque les lésions primitives progressent vers la guérison, on observe parfois l'éclosion de nouveaux foyers dans les régions les plus diverses. Ces lésions nouvelles persistent longtemps après la cicatrisation du chancre initial. Toutefois, elles n'offrent aucune tendance à l'extension, et restent localisées sous la forme d'un nodule ulcéré dont la guérison se produit invariablement.

Un contraste évident, sur lequel nous insisterons de nouveau dans la suite de ce mémoire, ne persiste pas moins entre l'extrême fréquence des réinoculations endogènes et la résistance des malades aux réinfections d'origine externe.

RÉINOCULATIONS DE PUS. — Un de nos sujets d'expériences a présenté une lymphangite expérimentale atypique non suivie d'immunité. Sur cet animal, inoculé sous la peau de la nuque avec 0 gr. 01 de cultures de cryptocoques de troisième passage, on observa après quarante-sept jours d'incubation un léger œdème de la région, œdème qui s'accrut les jours suivants, puis se résorba en partie et fit place à une masse indurée diffuse de 5 à 6 centimètres de diamètre environ adhérente à la peau. Les caractères de cette induration étaient si différents des lésions expérimentales habituelles de la lymphangite épizootique que nous doutions de sa spécificité.

79 jours après la première inoculation, le même cheval reçut une goutte de pus cryptococcique sous la peau de l'encolure. Après treize jours d'incubation, apparut sur ce point un léger épaissement cutané qui grossit rapidement et se transforma en trente-cinq jours en une tumeur abcédée du volume d'un œuf.

Mais pendant que cette lésion évoluait, la tumeur initiale de la nuque, restée stationnaire pendant plus de dix semaines,

entrait en activité, grossissait, devenait plus saillante sous la peau, s'abcédait et donnait naissance à une fine corde lymphatique, de 20 centimètres de long environ, bientôt bosselée de plusieurs nodules du volume d'une noisette.

Dans une autre expérience, 7 chevaux lymphangiteux ou guéris ont reçu, sous la peau, 1/10 de cent. cube de pus cryptococcique frais émulsionné dans 2 cent. cubes d'eau physiologique.

1° Cheval n° 9 guéri depuis 3 mois. — Résultats de la réinoculation : œdème immédiat suivi d'un abcès qui se cicatrise en quelques jours, aucune lésion spécifique n'est observée.

2° Cheval n° 51, malade depuis plusieurs mois (maladie naturelle) en voie de guérison. — Résultats de la réinoculation : volumineux œdème qui se résorbe sans s'abcéder. Aucune lésion spécifique n'est observée.

3° Cheval n° 52, malade depuis plusieurs mois (maladie naturelle) en voie de guérison. — Résultats de la réinoculation comme le cheval précédent.

4° Cheval n° 24. — Première inoculation de pus, 48 jours après l'inoculation initiale de culture. Résultats : un nodule spécifique se développe vers le 17^e jour, s'ulcère et guérit en deux mois.

Deuxième inoculation de pus, 111 jours après l'inoculation initiale de culture. Résultats : volumineux œdème immédiat suivi d'un abcès qui s'ouvre vers le 6^e jour et se cicatrise. Un petit nodule sensible du volume d'une amande persiste dans la région inoculée. Ce nodule reste stationnaire ou régresse, puis, le 14^e jour après l'inoculation augmente subitement de volume et atteint les dimensions d'une grosse noix. A l'aide d'une pipette, on en extrait un liquide sanglant, tenant en suspension des flocons purulents blanchâtres. A l'examen microscopique de ces flocons, on observe des cryptocoques bourgeonnant activement et présentant tous les caractères des cryptocoques des nodules jeunes.

Les jours suivants, l'induration diminue. Elle augmente de nouveau le 25^e jour et enfin se résorbe le 30^e. Aucun symptôme n'est observé par la suite, mais la région présente une sensibilité anormale pendant près de deux mois.

5° Cheval n° 42. — Atteint d'une tumeur cryptococcique

localisée résultant d'une injection virulente unique pratiquée depuis 3 mois. Mêmes résultats que pour le cheval précédent, après réinoculation de pus en deux points différents.

6° Cheval n° 43. — Gravement malade de lymphangite expérimentale depuis plus de 3 mois. Réinoculation de son propre pus en deux points différents. Résultats : œdèmes, puis abcès qui s'ouvrent et se cicatrisent. A l'un d'eux fait suite une petite induration du volume d'une amande, qui diminue peu à peu jusqu'à atteindre le volume d'une noisette, augmente légèrement ensuite, devient fluctuant et s'ouvre le cinquantième jour, le pus contient des cryptocoques typiques presque tous inclus dans les leucocytes hypertrophiés.

7° Cheval n° 43. — Gravement malade depuis 3 mois de lymphangite expérimentale. Réinoculation de son propre pus. Résultats négatifs. Un cheval témoin inoculé dans les mêmes conditions contracte la lymphangite.

Il semble donc que les animaux malades présentent à l'égard d'une réinoculation de cryptocoques du pus, une résistance moindre qu'à l'égard des réinoculations de cryptocoques de cultures.

Tantôt (n°s 9, 13, 51, 52), la résorption des parasites introduits s'effectue au cours de la réaction immédiate au point d'inoculation et aucune lésion spécifique n'apparaît.

Tantôt (n°s 24, 42) cette élimination est incomplète; une induration spécifique se forme et grossit pendant 15 à 20 jours. A l'intérieur du nodule, les cryptocoques se multiplient activement et donnent naissance à des formes jeunes, granuleuses, à parois simples, bourgeonnantes et polymorphes. Mais l'activité de la petite tumeur ne tarde pas à se ralentir et sa résorption s'effectue rapidement. Quatre à cinq semaines après l'inoculation virulente, elle a complètement disparu sans s'abcéder. Le seul symptôme qui persiste pendant un temps variable consiste dans un peu de sensibilité de la région inoculée.

Sur un des sujets malades (n° 43) réinfecté avec son propre pus, le nodule a apparu comme précédemment après une incubation très courte, a évolué vers l'abcédation et s'est ouvert le 50^e jour.

Un cheval neuf témoin, inoculé en deux points différents

avec le même pus et à la même dose que les chevaux n^{os} 7, 24, 42, 43, 51, 52 a présenté, après une incubation de 14 jours, deux nodules qui ont atteint en moins d'un mois le volume du poing et se sont abcédés le 35^e jour.

Enfin un neuvième animal réinfecté avec du pus 81 jours après l'inoculation initiale a réagi comme un cheval neuf.

VIII. — IMMUNITÉ PARASPÉCIFIQUE

L'un de nous, avec la collaboration de Bridré et de Trouette, avait déjà tenté d'immuniser, avec des émulsions de levures non pathogènes, les chevaux d'une écurie infectée.

Dans une écurie de 100 chevaux, parmi lesquels on comptait 10 lymphangiteux, 46 animaux furent inoculés avec des cultures de levures de riz et de bière, et 46 autres furent conservés comme témoins. Vingt jours après, 3 témoins avaient contracté la lymphangite alors que les vaccinés restaient indemnes. Malheureusement tous furent ensuite dispersés et l'expérience ne put être poursuivie.

Nous l'avons reprise dans les conditions suivantes : Un cheval fut traité tous les douze jours par des injections de doses croissantes de cultures de levures (*Saccharomyces ellipsoïdeus*) en milieu liquide (8 injections de 1 à 40 c. c.) Quinze jours après la dernière injection, il reçut 0 gr. 05 d'une culture de quatrième passage de cryptocoques. Après quarante-deux jours d'incubation, apparut dans la région inoculée une petite induration qui atteignit, en un mois, le volume d'un noyau de cerise, devint fluctuante et s'abcéda. Le pus éliminé contenait de nombreux cryptocoques typiques. A la fin du deuxième mois qui suivit, une tuméfaction sous-cutanée se dessina immédiatement au-dessous du nodule ulcéré, grossit et atteignit en moins d'un mois le volume du poing. Par la suite, elle évolua comme toutes les lésions localisées de la lymphangite.

C'est simplement à titre d'indication que nous signalons cette expérience unique, dont la valeur peut encore être diminuée par ce fait, que les injections de levures ont été continuées pendant toute la durée de l'évolution du nodule. Nous en retiendrons seulement que la résistance à l'action des cryptocoques

conférée au cheval par des injections répétées de levures, est au moins incertaine. Seule une lésion spécifique confère l'immunité contre les réinfections exogènes.

IX. — GUÉRISON

La guérison spontanée de la lymphangite épizootique se produit quelquefois, particulièrement lorsque les lésions intéressent la face et l'encolure. Le plus souvent, la maladie non traitée s'étend progressivement et se généralise.

La mort, qui survient après une évolution d'une durée très variable, résulte surtout des troubles provoqués par les pertes considérables de substance et de l'action toxique des microbes d'infection secondaire qui envahissent les plaies. L'action pathogène des cryptocoques est limitée à la destruction des tissus, par ulcération et nécrose. Elle ne retentit à aucun moment sur la santé générale des malades qui se maintiennent en bon état et conservent une température normale.

Quels que soient les moyens thérapeutiques employés, chimiques ou biologiques, la guérison est d'autant plus rapide que la maladie est plus récente et que le tissu fibreux inflammatoire est moins abondant dans les régions lésées.

Le processus en est toujours identique : les cordes et les boutons deviennent moins douloureux, la suppuration diminue de jour en jour, les ulcères se comblent et se recouvrent d'un épiderme nouveau. Peu à peu, les indurations disparaissent et les seules traces de l'inflammation qui persistent sont des cicatrices plus ou moins étendues, accompagnées parfois, dans le cas de lymphangite des membres, d'un léger éléphantiasis.

La guérison progresse du foyer initial aux foyers éloignés, c'est-à-dire des lésions les plus anciennes aux lésions les plus récentes. Les ulcères des muqueuses, les abcès profonds et les nodules fibreux sous-cutanés persistent pendant plusieurs semaines après la cicatrisation complète des boutons et ulcères de la peau. On retrouve, au centre des foyers enkystés, un magma purulent très riche en cryptocoques, plusieurs mois après la guérison des lésions superficielles. C'est à la présence des cryptocoques dans ces foyers, plutôt qu'à des réinoculations

d'origine externe, qu'il faut attribuer les rechutes tardives qui se produisent dans un certain nombre de cas.

Lorsque la maladie évolue vers la guérison, on observe dans le pus des nodules, une diminution du nombre des cryptocoques; en même temps la proportion des parasites altérés, intra- ou extraleucocytaires augmente. Dans un tel pusensemencé, quelques éléments seulement se développent sous la forme de grosses cellules rondes ou de filaments mycéliens, et on n'observe pas la formation de colonies visibles. La plupart des germes qu'il contient sont morts ou ont subi des modifications telles que leur vitalité est considérablement réduite. Cette constatation permet dans une certaine mesure d'expliquer les échecs éprouvés par de nombreux expérimentateurs au cours de leurs tentatives de culture du cryptococque.

B. — COMPARAISON ENTRE LES PROCESSUS

D'INFECTION, DE SENSIBILISATION ET D'IMMUNITÉ

DANS LA LYMPHANGITE ÉPIZOOTIQUE ET DANS CERTAINES AFFECTIONS CHRONIQUES

Le rôle aggravant des réinoculations expérimentales, la coexistence de l'immunité contre les réinfections exogènes et de la sensibilité aux infections endogènes ne sont pas particuliers à la lymphangite épizootique. Les mêmes phénomènes sont observés, quoique avec des modalités un peu différentes, dans un grand nombre d'affections mycosiques ou bactériennes chroniques.

I. — L'INFECTION

Au cours des précédents chapitres, nous avons montré que l'injection unique d'une culture de cryptocoques provoque l'apparition d'un nodule spécifique qui guérit après un temps plus ou moins long, sans se généraliser. Mais, sous l'influence des réinoculations virulentes pratiquées moins de cinquante jours après l'inoculation initiale, la lésion locale progresse, se

généralise et la maladie expérimentale évolue dès lors comme la maladie naturelle.

L'observation de ces faits est comparable aux observations de MM. Calmette et Guérin relatives à l'infection tuberculeuse expérimentale. « Les animaux maintenus en état d'isolement après une infection unique de moyenne intensité, réalisée artificiellement par le tube digestif, guérissent presque toujours, ils cessent de réagir à la tuberculine après quelques semaines ou quelques mois... Au contraire, les bovidés auxquels on fait absorber plusieurs fois de suite, à quelques jours ou quelques semaines d'intervalle, des doses minimales (0 gr. 10) de bacilles virulents d'origine bovine, ne guérissent jamais. Ils prennent une tuberculose grave, à marche d'autant plus rapide que les réinfections sont plus fréquentes. »

La lymphangite épizootique résulte d'inoculations répétées dans un court délai. Des analogies évidentes permettent d'étendre cette opinion à nombre d'affections microbiennes chroniques dont l'étiogénie reste obscure : à certaines mycoses, l'actinomycose bovine en particulier et peut-être à la lèpre.

Il résulte encore de nos expériences, que le rôle aggravant n'est pas limité aux réinoculations des seuls microbes spécifiques. L'extension de la lymphangite et sa généralisation sont également obtenues par injection à des lymphangiteux d'émulsions de levures non pathogènes et de bacilles de Preisz-Nocard.

L'évolution et la gravité de la maladie naturelle dépendent donc non seulement des infections spécifiques répétées, mais encore des infections secondaires et aussi, sans doute, d'autres « causes favorisantes » dont l'intervention a été successivement admise, puis niée, malgré l'expérience décisive de Pasteur sur l'influence du refroidissement dans l'infection charbonneuse de la poule, et enfin, de nouveau admise.

A. COMPARAISON DES RÉACTIONS FOCALES. — Les réactions focales dont l'intensité est variable, sont le signe d'une aggravation passagère ou définitive de la maladie.

L'infection et la guérison de la lymphangite sont caractérisées par l'alternance d'une série de phases dites positives et négatives qui se succèdent à intervalles plus ou moins longs. Dans l'infection, les phases négatives, qui représentent la

réaction focale, sont de plus en plus intenses et durables. Les phases positives correspondent, au contraire, à une phase de résolution; elles deviennent prédominantes quand la maladie évolue vers la guérison.

La possibilité du réveil d'une infection latente (charbon symptomatique, rouget) par l'inoculation d'un virus même atténué a été signalée en 1902 par Leclainche et Vallée lorsqu'ils démontrèrent que l'inoculation vaccinale est « l'occasion qui permet l'invasion et l'évolution microbiennes ».

De même, chez les tuberculeux, l'injection d'une dose forte d'antigène sous la forme de tuberculine est suivie d'une réaction focale (anaphylaxie en foyers de Courmont) si intense que les premiers essais de traitement tuberculinique aboutirent à des résultats déplorables.

Tous les phénomènes consécutifs aux réinoculations de germes vivants ou de corps microbiens ont été analysés avec une précision absolue par M. M. Nicolle dans son mémoire sur la morve expérimentale du cobaye.

L'injection, sous la peau d'un cobaye, de bacilles morveux morts détermine la formation d'une lésion locale. Si avant la guérison de cette lésion, on réinocule des bacilles morveux tués, le premier nodule devient le siège « réaction à distance » qui se termine toujours par résorption.

Sur un cobaye guéri d'un abcès d'inoculation virulente, mais encore porteur d'un petit ganglion inguinal où se maintiennent des bacilles morveux vivants, inactifs, la réinjection de bacilles morveux tués provoque la multiplication du virus intraganglionnaire et, dans certains cas, sa généralisation.

M. M. Nicolle suppose que le nodule contient un excès d'anticorps spécifiques et que ces anticorps réagissent au « passage des substances bacillaires venues du point de la seconde injection ».

Nous admettons que, dans la lymphangite épizootique au moins, la réaction à distance consécutive aux réinoculations de virus est due à la destruction d'une partie des parasites dans les foyers et à la diffusion des substances toxiques qu'ils renferment.

La lyse des microbes et la désintégration de leur contenu résulteraient autant d'une modification physico-chimique des

humeurs et du protoplasma des leucocytes que de l'hyperleucocytose et d'une stimulation du pouvoir phagocytaire.

A la suite de cette mycolyse, deux phénomènes peuvent se produire sous l'influence de la réintroduction d'antigène dans les organismes malades :

Tantôt les cryptocoques échappés à la destruction au cours de la réaction focale s'adaptent aux nouvelles conditions du milieu qui les entoure, se multiplient et étendent les lésions. La maladie s'aggrave et la mobilisation des leucocytes parasités provoque la formation de nouveaux foyers.

Tantôt, au contraire, la vitalité des germes reste affaiblie ; leur multiplication est moins active, la destruction phagocytaire n'est plus compensée par une prolifération accrue. Peu à peu, le nombre des parasites diminue dans les lésions et la maladie progresse vers la guérison.

La réaction focale n'est pas, nous l'avons vu, un phénomène étroitement lié à la spécificité et à la virulence de l'antigène réinjecté. L'inoculation de microbes divers la provoque également, quoique avec une intensité moindre. M. M. Nicolle a fait en 1906 des constatations identiques et a montré l'influence mutuelle des microbes de la maladie du nez et de la morve, chez le cobaye. L'administration de germes morveux, vivants ou morts, peut « faire sortir » le pseudo-pneumocoque hors des lésions latentes qu'il a déterminées, ou bien des surfaces muqueuses où il vit en saprophyte.

B. COMPARAISON DE L'ACTION FOCAL DES SÉRUMS SPÉCIFIQUES. — L'effet immédiat des injections sous-cutanées ou intraveineuses de sérum anticryptococcique à des lymphangiteux consiste dans une vive réaction inflammatoire au niveau des lésions (réaction focale) : fonte et ulcération rapide des nodules, exagération de la suppuration. Un sérum antilevre provoque des réactions de nature identique, mais beaucoup moins intenses.

Nous avons déjà comparé ces phénomènes avec ceux que Laverde et Carrasquilla ont décrits au cours du traitement de la lèpre par des injections de sérum spécifique, puis Metchnikoff et Besredka qui substituèrent, dans le traitement de cette maladie, un sérum hémotocytique au sérum antilepreux.

Dans son étude sur le phénomène d'Arthus, M. M. Nicolle a observé le réveil et le développement d'une affection latente ou virtuelle au cours du traitement sérique.

Le sérum polyvalent de MM. Leclainche et Vallée, administré par la voie sous-cutanée, présente cette propriété remarquable de provoquer chez les porteurs de plaies, des manifestations aiguës qui s'étendent au voisinage immédiat des lésions, et la formation au niveau des cicatrices, mêmes anciennes, d'abcès traduisant « un réveil de l'infection en apparence éteinte.... Il en résulte un élargissement des fistules, puis une élimination des corps étrangers ». La suppuration se tarit bientôt et la guérison des lésions, favorisée par cette mobilisation des esquilles et des débris qui s'y trouvaient séquestrés, progresse rapidement.

M. Jousset a signalé qu'après chaque injection de sérum antituberculeux à des tuberculeux se produit une « réaction de foyer » caractérisée par une aggravation apparente des symptômes. Il s'agit donc d'un phénomène d'ordre général, fonction du traitement sérique par sa nature et des qualités spécifiques des sérums par son importance.

C. COMPARAISON DE L'ACTION FOCALE DES MÉDICAMENTS CHIMIQUES. — Il est non moins intéressant de comparer les réactions focales que provoquent, chez les malades, les injections de sérums et d'antigènes avec celles qui apparaissent au cours du traitement médicamenteux de la lymphangite épizootique, à la suite des injections intraveineuses de salvarsan.

Ce ne sont point là encore des faits anormaux et limités à une seule affection. MM. Marchoux et Bourret ont observé, chez les lépreux traités par l'iode de potassium, l'inflammation subite de nodules torpides et l'apparition de suppurations « même dans des régions où l'infiltration lépreuse était masquée ». Des injections de nastine déterminent une réaction identique dans les lépromes, en même temps qu'une réaction générale.

*
* *

Ainsi, un très grand nombre de substances, depuis les substances minérales médicamenteuses jusqu'au sérum et à

l'antigène spécifiques, peuvent provoquer, chez les lymphangiteux, une *réaction focale* caractérisée par une exsudation œdémateuse et un afflux leucocytaire suivis de nécrose et de suppuration.

Quel que soit le produit injecté, le phénomène est identique dans sa nature; il ne varie que dans sa précocité, son intensité et sa durée. Il semble bien traduire, comme le supposaient Metchnikoff et Besredka, une réaction phagocytaire temporaire et le plus souvent incomplète, à laquelle s'ajoutent une mycolyse accrue et, secondairement, une diffusion plus rapide et plus massive des toxines protoplasmiques microbiennes.

II. — SENSIBILISATION

Dans la sensibilisation des lymphangiteux, il existe deux faits distincts :

1° *Les réactions locales consécutives aux réinjections de virus mort sont de plus en plus intenses et précoces.*

Ces réactions correspondent au phénomène d'Arthus (œdème, exsudation, puis nécrose), aux réactions observées par M. Borrel à la suite de la réinjection à des lapins de bacilles tuberculeux morts, aux réactions locales à la tuberculine et au phénomène de Koch. Elles peuvent donc être assimilées aux phénomènes d'anaphylaxie locale provoquée par les injections de protéines microbiennes.

2° *L'incubation des nodules de réinfection est de plus en plus courte.*

Une telle diminution de la période d'incubation a été rarement signalée dans l'étude expérimentale des maladies chroniques. Toutefois, M. Ch. Nicolle l'a parfaitement mise en évidence dans la lèpre. Les lépromes secondaires, consécutifs aux réinoculations, apparaissent, comme les nodules cryptococciques, après une période d'incubation d'autant plus courte que les réinoculations ont été pratiquées plus longtemps après la première. De 62 à 68 jours après l'inoculation initiale, cette période s'abaisse à 43 jours après la deuxième, à 6 jours après la troisième.

III. — IMMUNITÉ

Après une période d'hypersensibilité, au cours de laquelle l'incubation des nodules de réinfection est considérablement diminuée, les animaux lymphangiteux se montrent de plus en plus réfractaires aux réinoculations de cultures virulentes ou de pus spécifique. Pourtant, l'organisme qui présente cette résistance aux réinfections exogènes, cette aptitude à résorber les microbes inoculés, reste sensible aux parasites qu'il héberge. Non seulement les lésions initiales persistent et progressent, mais les cryptocoques qui s'y multiplient peuvent, sous certaines influences que nous avons indiquées, être mobilisés, se fixer ensuite dans les régions les plus diverses et provoquer l'édification rapide de nouveaux nodules.

Ces deux faits contradictoires coexistent également dans la tuberculose où, d'après MM. Calmette et Guérin, « les réinoculations de bacilles effectuées par les voies sous-cutanées et intraveineuses, et les réinfections par les voies digestives chez les animaux infectés ne réussissent pas à créer de nouvelles lésions évolutives, mais provoquent au contraire, des réactions plus ou moins violentes allant jusqu'à la formation très rapide d'abcès ».

Dans la syphilis on admet, d'une manière générale, que les réinoculations ne donnent aucun résultat lorsqu'elles sont pratiquées sur des malades, 12 jours après l'apparition du chancre. La sensibilité aux réinfections endogènes n'en persiste pas moins pendant toute la durée de la maladie.

Nocard avait déjà constaté que sur les chevaux morveux, l'auto-inoculation de virus est suivie parfois d'un chancre caractéristique. « Parfois, au contraire, après s'être entourées d'une induration assez considérable, les ulcérations prennent tout à coup une marche régressive et finissent par se cicatriser. » Souvent même, l'inoculation reste sans effet.

Il nous paraît prématuré d'ébaucher actuellement l'explication de ces phénomènes qui dominent non seulement l'histoire de la lymphangite épizootique, mais encore celle de la plupart des maladies infectieuses chroniques.

Nous nous bornerons à insister sur ce point, que la résistance des tissus intéressés est conditionnée par le mode de l'infection. Presque absolue chez les malades à l'égard du virus inoculé du dehors en dedans ou par la voie endoveineuse, elle est nulle à l'égard des parasites qu'ils hébergent et qui, au cours de leur dissémination, pénètrent dans le derme par sa face profonde.

Le fait ultime de l'immunité, consistant à la fois dans une modification physico-chimique des humeurs et des plasmas cellulaires et dans la lyse des parasites qui en résulte, le problème qui se pose, en l'espèce, se limite à déterminer comment la destruction microbienne locale, dans des circonstances en apparence semblables et sur un même sujet, active et efficace dans un cas, est impuissante dans l'autre (réinfections endogènes).

Les conditions générales étant identiques, c'est à l'examen des conditions locales de l'infection que les recherches doivent s'appliquer : d'une part, aux germes virulents dont le nombre, la masse, les caractères physiques, la vitalité, le mode d'agglomération, diffèrent suivant leur origine, à l'association en proportion variable, aux éléments vivants, d'éléments morts ou affaiblis, aux altérations de la paroi des microbes dont la perméabilité plus grande favorise une diffusion accélérée du contenu toxique; d'autre part à l'organisme, aux conditions anatomiques, aux réactions qu'entraîne le traumatisme de l'inoculation expérimentale, à la formule leucocytaire des foyers, au siège des microbes introduits de l'extérieur ou apportés par les vaisseaux lymphatiques et sanguins, et surtout au mode de transport par la lymphe et le sang des parasites inclus dans des leucocytes vivants.

CONCLUSION

Le processus de l'infection cryptococcique présente les plus grandes analogies avec le processus de l'infection tuberculeuse décrit par MM. Calmette et Guérin.

L'inoculation unique d'une émulsion de cultures de cryptococques ou de pus provoque l'édification d'un nodule spécifique

qui grossit et s'ulcère, puis guérit, après un temps plus ou moins long, sans se généraliser.

L'extension et la généralisation de la maladie sont conditionnées par les réinfections successives. Le rôle aggravant des réinoculations est d'autant plus important qu'elles sont pratiquées plus tôt après la première inoculation, à intervalles plus courts et à doses plus fortes.

L'immunité s'établit progressivement au cours de la maladie. Cinquante jours après l'inoculation initiale, la résistance est telle qu'une réinoculation virulente est généralement sans effet.

Dans la période qui précède l'établissement de cette immunité, les malades sont hypersensibles aux réinfections exogènes. L'incubation des nodules de réinfection est d'autant plus courte, leur évolution est d'autant plus rapide et leur gravité moindre qu'ils résultent d'une réinoculation plus tardive.

Même lorsque leur résistance aux réinfections d'origine externe est complète les lymphangiteux restent, pendant toute la durée de leur maladie, sensibles aux réinfections endogènes.

Enfin ces animaux présentent à l'égard des cryptocoques morts, réinjectés par voie sous cutanée, une intolérance croissante qui se traduit par des réactions locales et focales de plus en plus intenses et par la formation de plus en plus précoce d'abcès stériles.

*
* *

C'est à la bienveillance de M. le vétérinaire inspecteur Fray et de M. le professeur Vallée que nous devons d'avoir pu réaliser toutes les expériences rapportées dans ce mémoire. Nous les prions de vouloir bien agréer l'expression de notre affectueuse reconnaissance.

Nous sommes heureux d'adresser nos vifs remerciements à tous ceux qui, en accomplissant avec un absolu dévouement une tâche matérielle lourde, nous ont prêté un concours précieux.

BIBLIOGRAPHIE

- TIXIER et DELAMOTTE. — *Farcin d'Afrique*, Paris, 1879.
- RIVOLTA et MICELLONE. — Del farcino criptococcico. *Giorn. di Anat. e Patol. degli animali domestici*, 1883.
- CHÉNIER. — La lymphangite farcineuse. *Echo des Sociétés vétérinaires*, 1881 et 1882.
- BASSI. — Contribuzione alla monografia del farcino criptococcico. *Il medico veter.*, 1883.
- PEUPION et BOINET. — *Recueil des mémoires et observations sur l'hygiène et la méd. vétér. militaire*, 1888.
- MARCONI. — La saccaromicosi degli animali. *Atti del R. Istituto d'encorag. di Napoli*, t. VII, 1895.
- H. TOKIOHIGE. — Ueber pathogene Blastomyceten. *Centralblatt f. Bakt.*, t. XIX, 1896.
- SAN FELICE. — Ueber die pathogene Wirkung der Blastomyceten. *Centralblatt f. Bakt.*, t. LIV, 1906.
- THIROUX et TERPAZ. — Contribution à l'étude de la lymphangite épizootique des équidés au Sénégal. *Ces Annales*, t. XXIII, 1909.
- NOCARD et LECLAINCHE. — *Les maladies microbiennes des animaux*. Articles morve et lymphangite épizootique.
- METCHNIKOFF et BESREDKA. — Recherches sur l'action de l'hémotoxine sur l'homme. *Ces Annales*, t. XIV, 1900.
- LECLAINCHE et VALLÉE. — Des accidents consécutifs aux vaccinations; leur pathogénie, leur prophylaxie. *Ces Annales*, t. XVI, 1902.
- CH. NICOLLE. — Recherches expérimentales sur la lèpre. *Ces Annales*, t. XX, mai 1906.
- CALMETTE et GUÉRIN. — Origine intestinale de la tuberculose pulmonaire et mécanisme de l'infection tuberculeuse. *Ces Annales*, t. XX, mai et avril 1906.
- M. NICOLLE. — Etudes sur la morve expérimentale du cobaye. *Ces Annales*, t. XX, août, septembre et octobre 1906.
- M. NICOLLE. — Contribution à l'étude du phénomène d'Arthus. *Ces Annales*, t. XXI, février 1907.
- CALMETTE et GUÉRIN. — Contribution à l'étude de la vaccination des bovidés contre la tuberculose, par la voie digestive. *Ces Annales*, t. XXI, juillet 1907.
- A. BORREL. — Nécrotuberculose et sensibilisation (anaphylaxie) par bacilles tuberculeux morts. *Bul. de la Soc. de Path. exotique*, t. I, 8 juillet 1908.
- MARCHOUX et BOURRET. — Recherches sur la transmission de la lèpre. *Ces Annales*, t. XXIII, 1909.
- CALMETTE. — L'immunisation artificielle active contre la tuberculose par les vaccins antituberculeux. *Bull. de l'Institut Pasteur*, t. IX, 30 septembre 1911.
- BRIDRÉ, NÈGRE et TROUETTE. — Recherches sur la lymphangite épizootique en Algérie. *Ces Annales*, t. XXVI, septembre 1912.

- LECLAINCHE et VALLÉE. — Traitement spécifique des plaies. *C. R. Acad. des Sciences*, t. CLIV, p. 636; *Bull. Acad. de médecine*, séance du 23 février 1915. — Traitement sérique spécifique des plaies (rapport de E. Quénu). *Bull. et mém. de la Soc. de Chir.*, t. XLII, 1^{er} août 1916.
- VELU. — Le traitement curatif de la lymphangite épizootique par la vaccinothérapie. *Bull. de la Soc. centrale de méd. vétérinaire*, n° du 30 juin 1917.
- VALLÉE. — *Bull. de la Soc. centrale de méd. vétérinaire*, 28 février 1918.
- L. NÈGRE et A. BOQUET. — Culture en série et évolution, chez le cheval, du parasite de la lymphangite épizootique. *Ces Annales*, t. XXXII, mai 1918.
- JOUSSET. — Tuberculose et sérothérapie antibacillaire. *Journal médical français*, n° 4, décembre 1918.
- A. BOQUET, L. NÈGRE et G. ROIG. — La lymphangite épizootique des solipèdes. *Revue générale de médecine vétérinaire*, novembre et décembre 1918.
- A. BOQUET et L. NÈGRE. — L'infection, la sensibilisation et l'immunité dans la lymphangite épizootique des solipèdes. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, t. CLXVIII, séance du 24 février 1919.
- L. NÈGRE et A. BOQUET. — Essais de sérothérapie d'une affection mycosique chronique (lymphangite épizootique des solipèdes). *Ces Annales*, t. XXXIII, avril 1919.

LA LUTTE
CONTRE LA DIPHTÉRIE DANS LE LUXEMBOURG BELGE

DU DIAGNOSTIC DE LA DIPHTÉRIE
PAR L'EXAMEN MICROSCOPIQUE DIRECT

par le Dr P. F. LOMRY,

Inspecteur d'hygiène du Gouvernement,
Secrétaire de la Commission médicale provinciale.

Les laboratoires chargés du diagnostic bactériologique de la diphtérie effectuent invariablement un ensemencement sur sérum coagulé et parfois un frottis direct sur lamelle porte-objets avec les sécrétions pharyngées. Le tube ensemencé est porté à l'étuve pour être examiné le lendemain et le frottis sur lamelle est coloré et, séance tenante, examiné à l'immersion.

Tous les bactériologistes sont d'accord pour déclarer que l'examen direct n'est positif qu'environ deux fois sur dix, tandis que la culture est affirmative pour ainsi dire dix fois sur dix. C'est pourquoi tous déclarent, et nous sommes aussi de cet avis, que l'ensemencement est supérieur à l'examen microscopique pour diagnostiquer la diphtérie.

Mais comment peut-il se faire que, quatre-vingts fois sur cent, l'examen direct ne révèle la présence d'aucun bacille de Loeffler, alors que la culture donne de grandes quantités de colonies? Certes, nous comprenons que quelques rares bacilles passent inaperçus dans une préparation microscopique, tandis qu'ils suffisent pour ensemenecer un tube de sérum sur lequel ils se multiplient à merveille.

Il nous paraît cependant invraisemblable que dans des gorges diphtéritiques quatre-vingts échantillonnages ne recueillent jamais que quelques rares bacilles. On n'objectera pas que l'ensemencement les a tous enlevés, car une seconde culture faite après le frottis est encore généralement très riche.

Il doit y avoir d'autres raisons pour expliquer cette grande discordance entre l'examen direct et la culture. Ou bien les bacilles de Lœffler sont agglutinés à d'autres microbes, sont enveloppés de petits flocons de mucus, ou sont cachés par des matières étrangères telles que les poussières et le colorant ne les décèle pas. Ou bien ils sont desséchés sur l'ouate du tampon qui a servi à l'écouvillonnage, y adhèrent fortement, voire même plus fortement que les autres microbes, et s'en détachent plus difficilement sur le verre de la lamelle que sur le sérum de la culture. En un mot, pourquoi ne retrouve-t-on pas à l'examen direct des bacilles qui existent certainement sur l'écouvillon ayant servi à faire la préparation ?

Telle est la question qui nous a longtemps poursuivi. Sans doute, elle est sans importance pour le bactériologiste qui attend avec assurance le résultat de la culture, mais elle est capitale pour l'hygiéniste qui ne saurait intervenir trop tôt, et ne manque pas d'utilité pour le médecin qui sait combien il est avantageux d'injecter hâtivement des doses suffisantes de sérum.

Nous savons en effet : *a*) qu'au point de vue de la contagion de la diphtérie les contacts précoces sont de beaucoup les plus dangereux ; *b*) que les contacts rapides, momentanés, suffisent aux porteurs de germes aigus pour transmettre le bacille et répandre la maladie (1).

Nous savons également que les paralysies post-diphtériques, mortelles quand elles portent sur le cœur, sont d'autant plus rares et moins dangereuses que des doses massives de sérum ont été inoculées plus au début de la maladie.

C'est pourquoi nous avons envisagé la possibilité de poser d'une façon moins inconstante le diagnostic de la diphtérie par l'examen microscopique direct.

Nous avons à ce sujet entrepris une longue série d'essais qu'il serait inutile et fastidieux de rappeler. Il nous suffira de détailler le procédé auquel nous nous sommes arrêté, d'indiquer les causes qui pourraient induire en erreur et de résumer les résultats que nous avons obtenus.

(1) D^r LOMRY, La lutte contre la diphtérie dans le Luxembourg belge. *Revue d'hygiène et de police sanitaire*, t. XXXVI, nos 8-9-10, 20 Août, Septembre, Octobre 1914, pp. 820-830.

EXAMEN MICROSCOPIQUE DIRECT

Pour l'ensemencement sur sérum coagulé, nous avons soin de choisir un tube dont le fond contient environ un demi-cent. cube d'eau de sérum. Il importe que le tampon absorbe le liquide et s'en imbibe complètement. Nous avons remarqué avec M. le D^r Albert Dubois, assistant à l'Institut provincial de bactériologie de Liège, que les envois dont l'écouvillon est plongé dans le flacon du sérum injecté et dont l'ouate est humide sont ceux qui donnent les plus nombreux résultats positifs à l'examen direct.

Le tube ensemencé étant déposé à l'étuve, nous plaçons le tampon sur une lamelle porte-objets et nous l'y laissons une ou deux minutes pour que l'eau de sérum pénètre davantage l'ouate, l'imprègne à fond et en détache le plus possible de microbes. Puis, nous servant de pinces spéciales (voy. fig. 1) ou du pouce et de l'index (qu'ilte à se désinfecter immédiatement après), nous exprimons soigneusement le liquide hors de l'écouvillon en le faisant égoutter sur deux lamelles porte-objets.

On peut alors établir une distinction qui a sa valeur. Quand le liquide retiré est clair, on peut déjà présumer qu'il ne s'agit pas de diphthérie; mais quand le liquide est louche, trouble, chargé de microbes, c'est un signe que l'on a affaire à une angine plus grave et qu'il peut être question de croup.

Nous étendons légèrement le liquide sur chacune des deux lamelles au moyen de l'anse de platine que nous agitions circulairement de manière à dissocier le plus possible les petits amas et les flocons de mucus. Nous séchons et nous fixons à la flamme. Nous colorons une préparation au bleu de méthylène suivant



FIG. 1.

la méthode d'Ernst-Neisser indiquée à la page 414 de la *Technique Microbiologique* de Besson, et légèrement modifiée comme suit :

Plonger la préparation 20 minutes au moins dans : bleu de méthylène, 1 gramme ; alcool à 96°, 20 cent. cubes ; eau distillée, 950 cent. cubes ; acide acétique cristallisable : 50 cent. cubes. Laver à l'eau, sécher au buvard et passer un instant (jusqu'à décoloration) dans : vésuvine, 1 gramme ; eau distillée 50 grammes. Laver, sécher et examiner.

De toutes les colorations que nous avons expérimentées, ce



FIG. 2.

a) Bacilles diphtériques colorés à la méthode d'Ernst-Neisser.

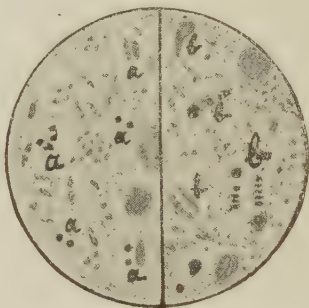


FIG. 3.

a) Pseudo-diphtérie courte; b) Pseudo-diphtérie longue.

procédé est le meilleur pour éclaircir la préparation, ce qui est nécessaire, et le plus sûr pour faire apparaître les grains de Neisser, ce qui est indispensable. Le seul reproche qu'on puisse lui adresser est qu'il ne montre guère les contours des micro-organismes, inconvénient auquel on remédie en rétrécissant l'iris et en se servant du miroir concave.

Avec un peu d'habitude, on reconnaît sans difficulté dans le fouillis de la flore pharyngée les germes de la diphtérie aux caractéristiques suivantes : ils sont fins, ténus ; ils mesurent de 0,5 à 1 micron de large et de 3 microns à 8 microns de long. Ils sont ordinairement droits et parfois légèrement incurvés comme le ressort d'un binocle. On leur distingue une membrane et des grains dits de Neisser. La membrane est très peu colorée et mise au point produit l'effet de deux lignes brunes

très minces et *toujours parallèles*. Les grains, éléments essentiels du diagnostic, sont ordinairement ronds et parfois ovoïdes. Ils sont volumineux en ce sens qu'ils mesurent de 0 mm. 7 à 1 mm. 2 de diamètre. Ils débordent donc presque toujours la membrane. Ils sont intensément colorés au bleu et apparaissent nettement. On les voit ordinairement au nombre de deux ou de trois, rarement plus, *régulièrement disposés et régulièrement distancés*. Les bouts du bâtonnet sont toujours terminés par un grain.

Quand on en remarque trois à un bacille, le diagnostic de diphtérie est pour ainsi dire assuré. Alors le bacille est long, rectiligne et parfois brisé à angle régulier sur le grain médian. Une fois familiarisé avec cet examen (voy. fig. 2), on retrouve aussi aisément le bacille de Löffler dans les sécrétions pharyngées que le bacille de Koch dans les crachats.

Chaque fois que l'on n'a pas découvert de bacilles de Löffler, l'on colore la seconde préparation au liquide de Roux pour s'assurer si l'on ne se trouve pas en présence d'une diphtérie sans grain de Neisser (le liquide de Roux fait très bien ressortir les corps bacillaires) ou en présence d'une angine de Vincent. Ces deux colorations, Ernst-Neisser, puis Roux, peuvent aussi s'opérer sur la même préparation.

Dans le doute, l'on s'abstient et l'on attend la culture du lendemain.

CAUSES D'ERREUR

Le diagnostic du bacille de la diphtérie à l'examen direct reposant avant tout sur les grains de Neisser, quelques causes d'erreur peuvent se produire du fait que d'autres microorganismes présentent aussi des corpuscules métachromatiques assez semblables aux granulations signalées par le Dr Neisser. Alors on est exposé à déclarer de la diphtérie là où il n'y en a pas. Puis, le contraire peut arriver, c'est-à-dire que dans certaines circonstances l'on peut ne pas reconnaître la diphtérie parce que les grains de Neisser font parfois momentanément défaut.

Les cas où l'on serait amené à déclarer de la diphtérie là où il n'y en a pas ne sont pas fréquents, encore devons-nous signa-

ler le bacille de la pseudo-diphtérie, puis un grand bacille saprophyte et un champignon.

1° Le bacille pseudo-diphtérique, autrement dit bacille de Hoffmann, est ordinairement court ou moyen et parfois long.

a) Quand il est court ou moyen, le diagnostic différentiel est facile. Les bacilles sont plus petits; les deux lignes de la membrane ne sont pas parfaitement parallèles, mais légèrement convexes en dehors de manière à former un ovoïde. Les grains sont plus petits, plus rapprochés et toujours au nombre de deux (voy. fig. 3, a.)

b) Quand le bacille de Hoffmann est long, c'est-à-dire en involution, ce qui arrive, quoique rarement, dans certaines gorges enflammées, il y a possibilité de le confondre avec le vrai bacille diphtérique. Cependant, généralement le bacille est plus large et les grains sont irréguliers dans leurs volumes. Dans ce cas, il est utile de recourir à la seconde préparation et de la colorer au liquide de Roux (1). Cette coloration fait mieux apparaître les formes du bacille et l'on reconnaît le bacille de Hoffmann en involution à son aspect craquelé, fendillé transversalement.

Notons que l'examen de la première culture, le lendemain, laissera persister le même doute. Ajoutons que pour les unicistes, c'est-à-dire ceux qui ne font aucune distinction entre le bacille de Lœffler et le bacille de Hoffmann, cette cause d'erreur n'existe pas et point n'est besoin de pousser l'investigation plus loin (voy. fig. 3, b.)

2° a) Le grand bacille saprophyte à corpuscules métachromatiques qui se rencontre dans la gorge et qui pourrait donner l'illusion du bacille de Lœffler long s'en distingue cependant aisément quand on l'examine attentivement. Il est souvent plus large et plus long. Sa membrane est souvent colorée uniformément en brun dans toute l'épaisseur du bâtonnet. Ses deux grains sont souvent très petits et en forme de calotte.

b) Parfois on rencontre aussi un mycélium de champignon. Ses grains sont ordinairement plus nombreux, mais irrégulièrement distribués et distancés, très petits et toujours fort débordants.

(1) Liquide de Roux : violet dahlia 1 gr., alcool 10 gr., eau distillée 90 gr., avec vert de méthyle 1 gr., alcool 10 gr., eau distillée 90 gr.

dés par la membrane. Il arrive même que ceux des extrémités ne terminent pas le bâtonnet mais sont dépassés par un bout de membrane. Ajoutons que le mycélium est ordinairement plus large, plus long et parfois uniformément coloré en brun comme le grand bacille saprophyte auquel il ressemble plus qu'à la diphtérie (voy. fig. 4.)

Voilà pour les cas où l'on pourrait déclarer de la diphtérie alors qu'il n'y en a pas. Les inconvénients résultant de cette erreur de diagnostic ne seraient pas graves. Ils ne consisteraient pas à faire injecter du sérum inutilement puisque le praticien

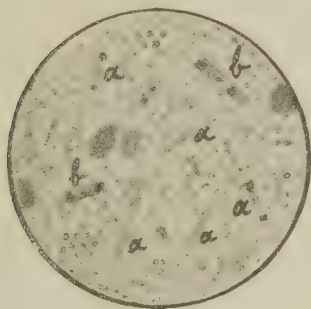


FIG. 4.

a) Bacille saprophyte; b) Mycélium de champignon.

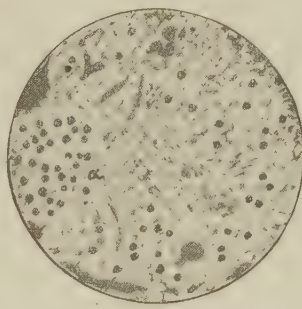


FIG. 5.

a) Bacilles diphtériques (en groupes).

l'a injecté avant de demander l'analyse, mais ils se réduiraient à faire prendre sans nécessité les premières mesures prophylactiques telles que l'isolement du malade, la recherche des porteurs de germes parmi les personnes en contact avec lui, etc. Mais, on n'en arriverait pas jusqu'à la désinfection, car les examens subséquents de la culture et la recherche des porteurs de germes corrigeraient l'erreur.

Il nous reste à voir les cas où l'on pourrait ne pas reconnaître la diphtérie là où elle existe. Sous ce rapport, nous établissons encore une distinction : 1° Tantôt les bacilles de Loeffler sont nombreux et se présentent en groupes ; 2° tantôt ils sont rares et ne se rencontrent qu'isolément.

1° Quand ils sont nombreux, rien n'est plus aisé que de poser le diagnostic de diphtérie. Les paquets de bacilles avec

leurs grains donnent à la préparation un aspect tout particulier qui ne saurait passer inaperçu (voy. fig. 5).

Il arrive cependant de temps à autre que les bacilles sont nombreux dans le frottis direct et qu'il est impossible de poser le diagnostic à l'examen microscopique par la méthode d'Ernst-Neisser. C'est quand on a affaire à une diphtérie qui à ce moment ne donne pas de grains de Neisser. Cela ne nous est encore arrivé que pour les diphtéries peu virulentes, donc des diphtéries pour lesquelles le retard d'un jour dans l'application des mesures prophylactiques court le moins de risque d'occasionner des catastrophes. Et alors la seconde préparation, colorée au liquide de Roux, peut encore parfois faire reconnaître les bacilles de Lœffler.

2° Quand les bacilles de Lœffler sont rares et isolés, il faut assurément chercher plus longtemps et s'appesantir davantage sur les particularités qui les caractérisent (voy. fig. 2).

Nous avons plus d'une fois remarqué que sur les bords de la préparation il est souvent plus facile de retrouver des bacilles avec leurs grains. Quand nous en avons découvert quatre ou cinq, nettement caractéristiques, nous n'hésitons pas à répondre affirmativement. Et quand dans trois ou quatre endroits différents nous avons cherché aussi longtemps que s'il s'agissait de tuberculose dans un crachat et que nous n'avons rien découvert, nous abandonnons la préparation et nous attendons la culture du lendemain avant de donner la réponse au médecin.

UN RELEVÉ DES RÉSULTATS OBTENUS

Maintenant que nous avons l'habitude de fouiller une préparation de sécrétions de la gorge colorées à la méthode d'Ernst-Neisser, nous méconnaissions peu de diphtéries à l'examen direct et nous n'en déclarons pas là où il n'y en a pas. Ce procédé de diagnostic est réellement pratique.

Nous avons même été étonné d'être quelquefois mieux renseigné par la préparation microscopique directe que par la culture. Voici comment : A trois reprises différentes, pour la même épidémie dans la même localité, la culture nous a donné

de la diphtérie moyenne mélangée à de nombreux bacilles de Hoffmann courts et moyens, alors qu'à l'examen direct nous avons parfaitement reconnu des bacilles de Loeffler longs avec grains de Neisser. L'examen de la culture nous laissant des doutes alors qu'à la lecture de la préparation directe nous avons répondu : « Bacille diphtérique, variété longue », nous demeurions perplexes. C'est pourquoi portant notre attention de ce côté, nous avons, sans difficulté, reconnu que nous nous trouvions bel et bien en présence de bacilles de la diphtérie longs, devenus moyens sur premier ensemencement.

Deux autres fois, nous avons même reconnu à l'examen direct des bacilles diphtériques longs, alors que la culture fut négative, c'est-à-dire si chargée de staphylocoques qu'il nous fut impossible d'y retrouver le germe de la diphtérie. Cependant, les symptômes cliniques et des prélèvements subséquents de sécrétions pharyngées démontrèrent que le bacille de Loeffler existait.

Pour préciser nous donnons un relevé exact de nos résultats comprenant nos cent derniers examens.

Sur ces 100 cas nous avons trouvé :

65 fois le bacille de la diphtérie ;

35 fois d'autres microorganismes que le bacille de la diphtérie.

Sur ces 35 examens négatifs nous avons reconnu :

1 fois des spirilles et des bacilles de Vincent ;

2 fois des pneumocoques en abondance ;

13 fois des streptocoques en quantité ;

7 fois des streptocoques avec des pneumocoques ;

12 fois des coques et des bacilles saprophytes.

Sur ces 100 cas, la culture a été 78 fois positive, donc 12 fois de plus que l'examen microscopique. Il en résulte que nous avons méconnu la diphtérie 12 fois sur 78, ce qui nous donne la proportion de 15 p. 100. On avouera que 15 p. 100 constituent une proportion sensiblement inférieure à 80 p. 100, c'est-à-dire à la proportion dans laquelle on méconnaissait généralement la diphtérie à l'examen direct.

Nous donnons l'assurance à ceux qui voudront faire comme nous, qu'après l'entraînement nécessaire ils obtiendront des statistiques plus belles encore.

Pour notre part, nous avons atteint le but que nous visions. Maintenant, plus de 85 fois p. 100 (au lieu de 20 fois p. 100 comme autrefois), une demi-heure après avoir reçu les sécrétions pharyngées, un télégramme ou un message téléphoné annonce au médecin traitant qu'il s'agit de diphtérie. Souvent il est arrivé que le praticien se trouvait ainsi à même de prendre les mesures de prophylaxie le jour de la demande d'analyse. Et, quelle que soit la nature du cas qui puisse profiter de la rapidité du diagnostic pour l'examen direct, si nous parvenons à sauver, ne serait-ce qu'une existence, notre récompense sera grande à la pensée d'avoir fait le bien.

CONCLUSIONS

En résumé, nous concluons, qu'au double point de vue thérapeutique et hygiénique il importe de donner toute son attention à l'examen microscopique des frottis directs effectués avec les sécrétions pharyngées.

1° Seul il permet le diagnostic de l'angine de Vincent.

2° Autant que la culture sur sérum il facilite le diagnostic des associations dues aux streptocoques et aux pneumocoques.

3° Plus de 85 fois sur cent, en cas de diphtérie, il fait gagner une journée du temps le plus précieux pour l'application des mesures de prophylaxie, sinon pour l'injection de sérum.

4° Ordinairement, quand l'examen microscopique est négatif et en opposition avec l'ensemencement positif, il fait présumer une diphtérie peu virulente.

5° Parfois il est même plus décisif que la culture ordinaire pour découvrir certaines diphtéries à colonies rares mélangées à d'autres microbes de la gorge dont le développement a été abondant.

SUR L'ACTION DIFFÉRENTE **DE LA CHOLESTÉRINE ET DU SÉRUM ANTITÉTANIQUE** **DANS L'EMPOISONNEMENT PAR LA STRYCHNINE**

par

le Professeur G. TIZZONI, le Professeur G. PERRUCCI,
Médecin-major de 1^{re} classe. Aide-major de 1^{re} classe, vétérinaire.

(Institut de Pathologie générale de l'Université royale de Bologne.)

L'un de nous (Tizzoni) a démontré, dans des travaux précédents (1), qu'il n'y a pas toujours une correspondance parfaite entre le pouvoir antitoxique du sérum antitétanique et son pouvoir immunisant et curatif, et que, voire même, ces deux termes sont parfois, entre eux, en contradiction manifeste.

Il a été établi, par contre, qu'il existe un rapport constant entre le pouvoir immunisant et curatif du même sérum expérimenté contre la toxine du tétanos et le pouvoir antistrychnique correspondant, déterminé par la méthode déjà connue par suite des recherches magistrales de Lusini (2) sur l'antagonisme d'action du sérum antitétanique et de la strychnine.

C'est sur ces bases et sur les résultats de recherches ultérieures relatées dans des publications successives (3) que fut établie la méthode proposée par nous pour la détermination du pouvoir immunisant et curatif du sérum antitétanique, au moyen de la strychnine; méthode qui élimine les défauts et

(1) TIZZONI, Recherches expérimentales sur la sérothérapie dans le tétanos, parties I et II. *Mém. de l'Acad. Royale des Sciences de Bologne*, série V, t. IX, 1901.

(2) LUSINI, Sur l'antagonisme d'action de l'antitoxine Tizzoni et de la strychnine. Note préliminaire. *Réforme médicale*, août 1897; *Arch. ital. de Biologie*, t. XXVIII, fasc. I. Sur l'antagonisme d'action du sérum antitétanique Tizzoni, Behring et Roux. *Arch. de Pharmacol. expérimentale*, t. XIII, fasc. 8-9, 1900.

(3) TIZZONI et PERRUCCI, Au sujet des critères scientifiques pour juger d'une façon rapide et sûre de l'efficacité réelle du sérum antitétanique. *Polyclinique*, t. XXII, mai 1915.

les inconvénients relatifs à la détermination de ce pouvoir par le mélange *in vitro* de sérum et de toxine. Ces défauts et ces inconvénients dérivent des différentes propriétés toxiques des diverses cultures de tétanos destinées à la préparation du sérum antitétanique, comme aussi de la difficulté de posséder, pour le tétanos, une toxine absolument constante (1).

Cette méthode, qui a trouvé une large application clinique et expérimentale dans la récente guerre mondiale (2), a le très grand avantage d'être accessible à tous et de donner des résultats rapides, exacts et facilement comparables entre eux.

En outre, nous avons aussi prouvé dans ces travaux que le pouvoir antistrychnique du sérum antitétanique est propre à ce sérum, et qu'il ne peut être constaté dans le sérum normal de lapin, de chien et de cheval, ni dans d'autres sérums antitoxiques et antibactériens, même s'ils sont employés à fortes doses (antivénéneux de Calmète, antirabique, antipneumonique, antidiphthérique, etc.). C'est pour cela que la propriété antistrychnique du sérum antitétanique, comme le pense aussi Lusini, ne peut absolument pas trouver sa raison d'être dans l'action des composants normaux du sérum ou dans celle des produits génériques existant aussi dans d'autres sérums immunisants, mais bien dans l'anticorps du sérum antitétanique, capable de neutraliser les effets de sa propre toxine. C'est à ce sujet que l'on a cité expressément et sommairement les conclusions des recherches faites par l'un de nous (Perrucci), et d'après lesquelles toute participation, quelle qu'elle soit, de la cholestérine et des autres lipoides contenus dans le sérum est inadmissible dans l'action antistrychnique du sérum antitétanique (3).

(1) TIZZONI, Vaccination et sérothérapie contre le tétanos. Contribution à l'étude du mécanisme de l'immunité. *Bibliothèque médicale italienne*, p. 48 et suiv. Sur la manière de déterminer la puissance du sérum antitétanique, par la méthode du mélange *in vitro*. *Réforme médicale*, an. XV, nos 242-43-44-45-46, 1899. Sur l'action pathogène différente de ma toxine du tétanos et de celle de Behring. *Gazette des Hôpitaux et des Cliniques*, n° 39, an. 1900. — RIGBI, Contribution à la connaissance des variétés bactériennes par les différences entre le bacille du tétanos de Tizzoni et celui de Behring. *Journ. internat. de Médecine pratique*, nos 13-14, juillet 1901.

(2) TIZZONI et PERRUCCI, Sur la propriété de se conserver du pouvoir immunisant du sérum antitétanique et sur les causes qui peuvent en limiter la durée. *Journ. de Médecine militaire*, fasc. V, 1918.

(3) TIZZONI et PERRUCCI, Au sujet des critères scientifiques, etc. *Loc. cit.*

D'autre part, comme des exceptions ont été objectées au sujet de la méthode par nous proposée (1), nous avons voulu revenir sur l'argument, afin de mieux éclaircir la question et d'établir d'une manière plus précise encore les différences qui pourraient éventuellement exister entre l'action de la cholestérine et celle du sérum antitétanique dans l'empoisonnement par la strychnine.

Les tableaux dans lesquels ont été exposées en résumé les données relatives à chacune des expériences sont reportés à l'appendice. La cholestérine a toujours été employée en suspension aqueuse et injectée tantôt dans le péritoine, tantôt sous la peau; le sérum antitétanique a été également injecté dans la cavité du péritoine. La dose mortelle minima de strychnine, de même que le mélange de cholestérine et de strychnine, de sérum antitétanique et de strychnine a toujours été introduite sous la peau; la distance entre l'injection de la cholestérine et du sérum antitétanique et celle de la dose mortelle minima de strychnine a toujours été de vingt-quatre heures, à moins d'indication contraire; la dose mortelle minima de strychnine, capable de tuer le cobaye, en moyenne en quinze à vingt minutes, a été de 4 milligr. par kilogramme pour les vieilles solutions; pour les plus récentes, qui se trouvaient être moins toxiques que les précédentes, elle a été de 4 milligr. 5.

Il résulte clairement de ces expériences que *la cholestérine annule les effets de la strychnine par mélange in vitro comme Almagià (2) l'avait démontré le premier* (série I); au contraire *elle n'a aucune action lorsque la cholestérine et la dose mortelle minima de strychnine sont injectées séparément au cobaye à la distance de vingt-quatre heures l'une de l'autre* (série II), et cela contrairement à ce qui se vérifie pour le sérum antitétanique (série IV).

Nous avons trouvé, en outre, qu'une quantité de cholestérine de 3 à 5 milligr., par exemple, a la vertu, par mélange, d'annuler les effets d'une seule dose mortelle de strychnine

(1) LONDINI, Sur le pouvoir antistrychnique du sérum antitétanique. Note préliminaire. *Polyclinique*, fasc. V, mai 1918.

(2) ALMAGIÀ, Recherches sur la possibilité de neutraliser la strychnine avec la cholestérine, lécithine, etc. *Bull. de l'Acad. Royale de méd. de Rome*, fasc. III, IV.

égale à 4 milligr., tandis que l'animal meurt si la dose de strychnine est de 4 milligr. 5, c'est-à-dire à peine plus forte (série I); que le mélange de cholestérine et de strychnine n'est pas même capable de déterminer dans le cobaye une augmentation de résistance contre l'empoisonnement strychnique d'une certaine durée, parce que l'animal auquel on a injecté un tel mélange meurt constamment si, à un intervalle de vingt-quatre à quarante-huit heures, on pratique une nouvelle injection avec la dose mortelle minima de strychnine (série III); par contre, avec le sérum antitétanique, on a dans le même animal des effets permanents, ou, au moins, d'une certaine durée, de sorte qu'il survit à de nouvelles injections répétées de la dose mortelle minima de strychnine, même si elles sont faites à vingt-cinq jours d'intervalle de celle du sérum (série IV); finalement que la quantité de sérum antitétanique capable d'annuler *in vitro* les effets de la dose mortelle minima de strychnine est un peu supérieure, environ du double, à celle qui réussit à sauver l'animal, lorsque sérum et strychnine sont injectés séparément au cobaye à vingt-quatre heures d'intervalle (série V).

A propos des expériences faites avec le mélange de cholestérine et de strychnine, il est bon de signaler encore quelques faits qui peuvent conduire à des interprétations erronées des résultats expérimentaux obtenus par les observateurs précédents. En vérité, nous avons constaté qu'un animal qui a survécu à l'injection d'un mélange de cholestérine et de strychnine peut résister à une nouvelle injection de la seule dose mortelle minima de strychnine pratiquée de vingt-quatre à quarante-huit heures après, à condition pourtant que cette injection soit faite dans le dos, tout à fait dans le voisinage de la précédente; *tandis que cela n'arrive pas lorsque, au contraire, la seconde injection est pratiquée dans une partie très éloignée de la première, par exemple dans la région postérieure de la cuisse.*

Cela s'explique par le fait qu'une grande quantité de la cholestérine injectée doit rester, et qu'elle reste, en effet, dans la partie où l'injection du mélange a été pratiquée et qu'elle réussit même, dans l'animal, à exercer sur la strychnine successivement injectée cette même action physico-mécanique qui en annule les effets *in vitro*, en déterminant un retard et un frac-

tionnement dans l'absorption du poison, et cela par rapport à la solution aqueuse de strychnine.

Et puisque la dose de strychnine injectée correspond au minimum mortel, il suffit ainsi que la cholestérine restée au point d'injection en retienne une très petite quantité ou qu'elle en ralentisse simplement l'absorption par pure action physico-mécanique, pour que l'animal n'ait à en ressentir aucun effet et qu'il survive en bonne santé. Quelque différente que soit la nature du phénomène, le fait est identique à celui qui a déjà été démontré au sujet de l'injection sous-cutanée de sérum antitétanique et de celle de toxine du tétanos, faites sur des points distincts l'un de l'autre, mais suffisamment rapprochés, et dans lesquelles le pouvoir immunisant du sérum est plus grand que celui qui est obtenu lorsque sérum et toxine sont injectés dans des régions éloignées. La raison en est que, dans le premier cas, où les cercles d'absorption et de diffusion viennent à se toucher réciproquement entre eux ou à se superposer les uns aux autres, une bonne partie de la toxine reste neutralisée sur place, étant ainsi soustraite à l'action générale sur l'organisme (1).

C'est pour cela que, si l'on veut pouvoir affirmer en toute sûreté qu'un animal auquel on n'a injecté que la seule cholestérine réussit à supporter l'injection de la dose mortelle minima de strychnine faite vingt-quatre heures après, *il faut que cela arrive dans un sujet neuf qui n'ait pas subi d'autres expériences de ce genre, et que l'injection de la strychnine soit faite dans des parties du corps très éloignées de celle où la précédente a été pratiquée, afin d'éviter les erreurs de jugement qui peuvent dériver de la fixation dans l'animal, au moyen de la cholestérine restée inabsorbée sur place, d'une très minime partie de la strychnine introduite, fixation telle qu'elle empêche les effets mortels.*

Ces faits étant admis, il est facile de donner leur juste valeur aux précédentes expériences qui, à première vue, peuvent être interprétées et alléguées comme des preuves positives de l'action que la cholestérine est capable d'exercer sur la strychnine, même lorsque celle-ci est injectée séparément dans l'animal.

(1) TIZZONI, Vaccination et sérothérapie contre le tétanos, etc. *Loc. cit.*, p. 104 et suiv.

On peut ainsi expliquer pourquoi Raimondi (1), en bourrant littéralement de cholestérine un lapin qui reçut dix injections de 20 centigr. chacune en dix jours consécutifs ou séparés par des jours de repos (ce qui occasionne toujours un grave dépérissement de la nutrition générale), aurait réussi dans deux cas à faire supporter aux mêmes animaux une dose de strychnine de 6,0-6,5 milligr. par kilogr. deux fois de suite dans un cas, tandis qu'une troisième injection de strychnine de 7,5 milligr. par kilogr. fut mortelle. Comme il n'a pas été parlé dans les différents mémoires de la voie d'introduction de la cholestérine, il est présumable, même pour les doses élevées introduites, que ces injections ont été pratiquées sous la peau, et que les injections d'essai avec la strychnine ont été aussi pratiquées dans la région sous-cutanée et tout près des précédentes.

D'autre part, on doit se rappeler aussi les justes réserves du même auteur au sujet de ces expériences, vu qu'il s'empresse de déclarer dans ses conclusions *que les résultats obtenus par lui demandent à être confirmés par des recherches plus étendues.*

Les mêmes objections peuvent être faites au sujet des expériences postérieures de Lusini et Mori (2), lesquels auraient découvert que l'injection de la cholestérine et celle de la strychnine faites séparément dans le lapin soit simultanément, soit en retardant de quelque temps, même d'un jour entier, celle de la strychnine, sont bien tolérées par l'animal, de sorte que l'on peut en conclure que la précédente injection de cholestérine a été apte à le prémunir contre l'action de la strychnine administrée à la dose mortelle minima ou à une dose un peu plus forte. Il est probable aussi que, dans ces expériences de Lusini et de Mori, l'injection de la cholestérine et celle de la strychnine avaient été faites sous la peau ou dans des parties du corps très proches l'une de l'autre, d'où la fixation d'une partie de la strychnine injectée par l'action de la cholestérine restée inabsorbée, comme aussi la survivance de l'animal.

(1) RAIMONDI, Sur le mode d'action des sérums antitétaniques et de quelques préparations chimiques dans l'empoisonnement par la strychnine. *Arch. f. exp. Pathologie u. Pharmacologie*, t. LIX bis, p. 449, 1908.

(2) LUSINI et MORI, Sur l'action désintoxicante des principes composants de la bile, par rapport à la strychnine. *La Clinique vétérinaire*, section scientifique, 1909, p. 27.

Il ne résulte pas qu'Almagià (1) ait fait des essais *in vivo*, c'est-à-dire en introduisant dans l'animal cholestérine et strychnine par des injections séparées et distinctes.

Aucune expérience précédente ne peut donc servir à démontrer, d'une manière irréfutable, que la cholestérine injectée séparément dans l'animal est capable d'annuler l'action de la dose mortelle minima de strychnine, exception faite seulement pour celle rappelée ci-dessus (2) dans laquelle l'injection de la cholestérine et celle de la strychnine furent faites en des régions séparées et distinctes, c'est-à-dire la première dans des cavités du péritoine et la seconde dans la région du tissu conjonctif sous-cutané.

Mais nous croyons opportun, à ce sujet, d'attirer l'attention sur un inconvénient qui peut être constaté dans ces expériences, à savoir que, si l'on n'emploie pas des solutions de strychnine suffisamment vieilles et fréquemment contrôlées, il se produit facilement des oscillations dans les effets toxiques de la dose mortelle minima, bien que celle-ci soit toujours exactement calculée pour le cochon d'Inde à 4 milligr. par kilogr.

En tout cas, quelle que soit l'explication que l'on voudra donner des quelques cas positifs connus jusqu'à présent, il est certain que les expériences par les injections séparées, dans l'animal, de la cholestérine et de la strychnine n'ont pas réussi toujours, ni à tout le monde, et que, quand cela est arrivé, c'est, le plus souvent, dans des conditions particulières auxquelles peut s'adjoindre même, dans l'animal, une action de contact ou de fixation, tandis que le sérum antitétanique essayé de la même manière contre la strychnine a toujours réussi et dans toutes les mains, quelle que soit la partie dans laquelle il a été introduit.

Nous croyons avoir ainsi démontré que *la cholestérine n'agit, contre la strychnine, pas autrement que par mélange et comme conséquence d'un phénomène commun, l'absorption, tandis que le sérum antitétanique agit, même séparément, sur l'animal, déterminant dans le cochon d'Inde et dans le lapin une résistance absolue contre l'empoisonnement par la strychnine, résis-*

(1) ALMAGIÀ, *loc. cit.*

(2) LONDINI, *loc. cit.*

tance d'assez longue durée et comparable en tout à ce qui se rencontre dans l'immunité spécifique.

En d'autres termes, la cholestérine et le sérum antitétanique non seulement donnent des résultats tout à fait différents dans les expériences contre la strychnine, mais le mécanisme par lequel ces produits opèrent est très discutable.

Les résultats moins favorables que l'on obtient au moyen du sérum antitétanique dans les expériences par mélange, comparées à celles dans lesquelles sérum et strychnine sont injectés séparément dans l'animal et à un certain intervalle de temps, trouvent leur raison d'être dans une plus grande vitesse des courants d'absorption et de diffusion de la strychnine par rapport à ceux des composants colloïdaux du sérum auxquels le corps spécifique appartient probablement. C'est pourquoi une plus prompte absorption et une plus rapide diffusion de la strychnine qui se trouve dans le mélange font que celle-ci exerce librement son action sur le système nerveux avant que l'élément respectif et spécifique du sérum antitétanique ait eu le temps et la possibilité d'être absorbé, et d'exercer son action antagoniste.

Pour établir la preuve de cela, nous avons fait séparément dans l'animal l'injection du sérum et celle de la strychnine, mais à un très court intervalle de trente minutes, et nous avons pratiqué la première dans une cavité du péritoine au lieu de la faire sous la peau, pour compenser ainsi la différence de vitesse d'absorption et de diffusion des deux corps, et pour permettre à la strychnine d'arriver au système nerveux lorsque celui-ci était déjà suffisamment protégé. Eh bien! des résultats positifs ont été obtenus dans cette expérience et l'animal a été sauvé, bien que l'on ait employé la même dose de 0,2 c. c. qui s'était montrée suffisante lorsque sérum et strychnine avaient été injectés à vingt-quatre heures d'intervalle et qui, au contraire, avait failli dans les essais par mélange (voir expérience 4, série IV).

C'est là une confirmation importante de la conclusion que le sérum antitétanique ne neutralise pas l'action de la strychnine par simple affinité chimique, ni même par pur phénomène mécanique physique d'absorption et de retenue.

Finalement, nous pouvons aujourd'hui affirmer au sujet des

PROTOCOLE DES EXPÉRIENCES

SÉRIE I. — Expériences avec un mélange *in vitro* de cholestérine et de strychnine.

NUMÉROS des expériences	ANIMAL	POIDS en gram- mes	MÉLANGE		RÉSULTAT	OBSERVATIONS
			cholesté- térine	strych- nine		
1	Cobaye.	270	milligr. 3 p. kil.	milligr. 4 p. kil.	Survit.	»
2	—	220	5 —	4 —	Survit.	»
3	—	250	5 —	4 —	Survit.	»
4	—	240	5 —	4 —	Survit.	»
5	—	250	5 —	4,5 —	Mort en 11'	»

SÉRIE II. — Expériences avec injection séparée à l'animal de cholestérine et de strychnine.

NUMÉROS des expériences	ANIMAL	POIDS en gram- mes	CHOLESTÉRINE		STRYCHNINE	RÉSULTAT	OBSERVATIONS
			quantité	siège de l'injec- tion			
1	Cobaye	220	milligr. 3	Péritonéale	milligr. 4 p. k.	Mort en 12'	»
2	—	250	6	—	4 —	— 32'	»
3	—	230	10	—	4 —	— 13'	»
4	—	280	10	—	4,5 —	— 27'	Solution fraîche de strychnine. Injection de strychnine dans le dos en un point éloigné de celui de l'injection de cholestérine.
5	—	370	10	S.-cutanée.	4,5 —	— 28'	
6	—	290	10	—	4,5 —	— 16'	

**SÉRIE III. — Expériences sur la durée de la résistance
à la strychnine déterminée par injection du mélange *in vitro*
de cholestérine et de strychnine.**

NUMÉROS des expériences	ANIMAL	POIDS en gram- mes	MÉLANGE		INJECTIONS SUCCESSIVES DE STRYCHNINE			RÉSULTAT
			chole- stérine	strych- nine	interval- les	quantité	siège	
			milligr. —	mil igr. p. kilogr. —	heures —	milligr. p. kilogr. —		
1	Cobaye.	220	5	4	»	»	»	Survit.
—	—	»	»	»	24	4	Dos.	Survit.
—	—	200	»	»	48	4	Ventre.	Mort au bout de plusieurs heures.
2	—	270	3	4	»	»	»	Survit.
»	—	»	»	»	48	4	Dos (1).	Mort en 14'.
3	—	240	5	4	»	»	»	Survit.
—	—	220	»	»	24	4	Dos (2).	Survit.
—	—	»	»	»	48	4	Cuisse.	Mort en 1 h. 16
4	—	250	5	4	»	»	»	Survit.
—	—	230	»	»	24	4	Cuisse.	Mort en 1 h.

(1) L'injection de strychnine fut faite à distance du point où on avait pratiqué l'injection du mélange de cholestérine et de strychnine.

(2) L'injection de strychnine fut faite presque au même point où avait été pratiquée celle du mélange de cholestérine et de strychnine.

expériences pratiquées sur le cochon d'Inde par l'injection séparée de sérum et de strychnine que cet animal peut très bien servir, de même que le lapin et mieux encore que celui-ci, à la détermination du pouvoir immunisant et curatif du sérum antitétanique, car il offre un champ d'observation beaucoup plus vaste qui nous permet d'apprécier dans la valeur du sérum les moindres différences même en dixièmes de cent. cubes de sérum et de tracer une limite beaucoup plus nette entre le résultat positif et le négatif. En effet, dans le cas du cochon d'Inde, on se trouve

SÉRIE IV. — Expériences avec l'injection séparée du sérum antitétanique et de la strychnine.

(Injection de sérum intraveineux chez le lapin, péritonéale chez le cobaye.)

NUMÉROS des expériences	ANIMAL	POIDS en gram- mes	CHEVAL PRODUC- TEUR de sérum	QUANTITÉ de sérum injecté	STRYCH- NINE		INTER- VALLE des injections de sérum	RÉSUL- TAT	OBSERVATIONS
					c. c.	milligr. p. kilogr.			
1	Cobaye.	270	Vena.	0,5	4	—	24 heur.	Survit.	Epreuve compa- rative avec les expériences 5 et 6, série II.
—	—	—	—	—	4	—	2 jours	Survit.	
—	—	290	—	—	4	—	3 —	Survit.	
—	—	—	—	—	4,5	—	10 —	Survit.	
—	—	370	—	—	4	—	15 —	Survit.	
—	—	360	—	—	4	—	25 —	Survit.	
2	Lapin.	1.350	Tagiura.	0,5	0,8	—	24 heur.	Survit.	
3	Cobaye.	270	—	0,2	4	—	24 —	Survit.	
4	—	290	—	0,2	4	—	30'	Survit.	
5	—	240	—	0,1	4	—	25 heur.	Mort en 14'	

SÉRIE V. — Expériences avec un mélange *in vitro* de sérum antitétanique et de strychnine.

NUMÉROS des expériences	ANIMAL	POIDS en gram- mes	CHEVAL PRODUC- TEUR de sérum	MÉLANGE		RÉSULTAT	OBSERVATIONS
				sérum	strych- nine		
1	Cobaye.	220	Tagiura.	c. c. 0,2	milligr. 4 p. kil	Mort en 58'	Le mélange a été tenu 24 h. au ther- mostat.
2	—	210	—	0,2	4 —	— en 24'	
3	—	250	—	0,3	4 —	— en 27'	
4	—	380	—	0,4	4 —	Survit.	
5	—	210	—	0,5	4 —	Survit.	

en face de deux possibilités seulement, ou bien il ne présente aucun phénomène d'intoxication, secousses passagères, espèces de sursauts transitoires, et alors il survit toujours, ou bien il tombe à terre en proie à un accès strychnique, et dans ce cas, il meurt constamment après un temps variable. Le lapin, au contraire, même lorsque l'accès se produit et qu'il tombe à terre, ne meurt pas toujours, mais quelquefois il soulève la tête peu de temps après, se dresse sur son train de devant, puis sur celui de derrière qui souvent reste, pendant quelque temps, contracté et paralysé. Ainsi, tandis que dans le cochon d'Inde l'accès marque la limite nette entre les cas où l'animal meurt et ceux où il survit, dans le lapin, au contraire, ce n'est plus l'accès qui détermine le résultat positif et négatif de l'essai, mais bien la mort ou la survivance de l'animal, et parfois un certain temps est nécessaire pour que l'on puisse se prononcer définitivement sur l'une ou sur l'autre.

UN CAS DE GUÉRISON SPONTANÉE
DE LA RAGE A VIRUS FIXE, CHEZ LE LAPIN
(INOCULATION SOUS-DURE-MÉRIENNE)

par P. REMLINGER.

L'inoculation du virus rabique fixe sous la dure-mère du lapin est, comme on sait, une des épreuves les plus sévères auxquelles un animal puisse être soumis. Il est exceptionnel (1) qu'un lapin ainsi inoculé ne contracte pas la rage et il n'existe, à notre connaissance, aucun cas de lapin qui, ayant pris la maladie, ait guéri. L'observation suivante paraît constituer une exception à une règle absolue jusqu'ici.

Le 18 octobre 1918, au cours d'expériences sur l'hérédité de l'immunité antirabique, 4 lapins, qui avaient reçu sans succès dans les muscles de la nuque, le 16 août, 2 cent. cubes et le 21 septembre 10 cent. cubes d'une émulsion à 1/50 du virus fixe de l'Institut Pasteur de Paris, actuellement aux environs de son 1.200^e passage, 4 lapins sont trépanés sévèrement avec une émulsion épaisse de ce même virus fixe. Trois de ces animaux présentent le 23 octobre (7^e jour) les signes d'une rage paralytique classique à laquelle ils succombent le 27 (1 lapin) ou le 28 (2 lapins). Le 26 octobre (8^e jour) le quatrième lapin (♂) est noté comme commençant également une rage paralytique, mais on est surpris les jours suivants de voir la maladie évoluer avec une grande lenteur et on examine alors l'animal de plus près.

Le 1^{er} novembre (14 jours après l'inoculation sous-dure-mérienne, 6 jours après le début de la maladie) le lapin est manifestement paralysé des quatre membres. Néanmoins il se

(1) REMLINGER : Deux observations. Ces *Annales*, 1903, p. 843. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, t. LXXXI, p. 162, 23 février 1918. — J. VIALA : Une observation. Ces *Annales*, 1912, p. 239.

tient encore sur ses pattes. Il chancelle de temps à autre, mais arrive à se relever seul et à se remettre d'aplomb. Si on imprime à son corps une secousse brusque, de manière à le coucher sur le côté, le lapin se relève avec plus de difficultés, mais il parvient encore à le faire. Fait curieux, il n'a pas perdu l'appétit comme les lapins rabiques. Il dévore avec avidité toutes les herbes qu'on lui présente.

Le 2 novembre (7^e jour de la maladie), l'état s'est aggravé. L'animal se tient difficilement sur ses pattes, tombe, se relève, retombe, se remet à nouveau d'aplomb. Ce faisant, il dissémine en grand désordre dans sa cage tous ses aliments. L'appétit paraît très diminué.

3 novembre (8^e jour). Le lapin qu'on s'attendait à trouver couché sur le côté se tient solidement arc-bouté dans un des angles de sa cage et, ainsi soutenu, il évite les chutes continues de la veille. La tête est tombante par paralysie des muscles de la nuque. Le corps présente un peu d'amaigrissement. Néanmoins, on constate le soir que l'animal a mangé toute la ration d'herbe qui lui avait été donnée le matin.

4 novembre (9^e jour). Etat stationnaire, plutôt meilleur. L'animal se tient à peu près d'aplomb sur ses quatre pattes et mange d'excellent appétit.

5 novembre (10^e jour). L'amélioration est manifeste. Le lapin se tient bien d'aplomb et ne tombe plus.

6 novembre (11^e jour). L'amélioration persiste. Non seulement l'animal se tient d'aplomb, mais il lui arrive de se dresser sur ses pattes de derrière. Sorti de sa cage, il tourne en cercle comme s'il avait des troubles cérébelleux.

10 novembre (15^e jour). A toujours la tête tombante et une tendance à tourner en cercle. Présente, à part cela, tous les attributs de la santé.

15 novembre (20^e jour). Paraît guéri définitivement. Continue néanmoins de présenter un peu de chute et d'inclinaison latérale de la tête par paralysie des muscles de la nuque et de la tendance à tourner en cercle.

Le 21 novembre (34 jours après la trépanation, 26 jours après le début de la paralysie), l'animal reçoit sous la dure-mère, en même temps qu'un témoin, 1/4 de cent. cube d'une émulsion épaisse de virus fixe et ne montre absolu-

ment aucun symptôme morbide. Début de la rage paralytique au 7^e jour chez le témoin. Mort au dixième. Le 4 mars 1919 (137 jours après la première trépanation, 103 jours après la seconde) le lapin reçoit encore sous la dure-mère un 1/2 cent. cube d'une émulsion de virus fixe à 1/50. Cette inoculation le laisse complètement indifférent tandis qu'un lapin témoin inoculé avec une dose moitié moindre succombe classiquement en dix jours. Actuellement, plus de six mois après la première trépanation, l'animal est toujours vivant et bien portant. De ce fait, nous croyons pouvoir conclure qu'une première atteinte de rage lui a conféré l'immunité. On sait que les choses se passent ainsi chez le chien (1).

Nous demandons la permission de faire suivre cette observation de quelques brefs commentaires.

1^e La seule observation de guérison de la rage chez le lapin de laquelle l'observation précédente puisse être rapprochée est due à M. H. Vincent (2). « Ayant eu à faire l'autopsie d'un chien enragé, dit M. H. Vincent, j'inoculai sous la dure-mère d'un lapin une parcelle du bulbe de ce chien délayée dans de l'eau stérilisée. Quatorze jours après, le lapin manifesta les premiers signes d'une rage furieuse qui le faisait se jeter sur ceux qui essayaient de l'approcher et mordre violemment tout ce qu'on lui présentait. Après une semaine, survint une parésie des membres postérieurs en même temps que s'atténuaient les signes de rage furieuse. Or, malgré la gravité de ces symptômes, ce lapin a fini par guérir et il ne peut faire de doute qu'il ait été atteint d'infection rabique. »

On remarquera que cette intéressante observation porte sur du virus de rue et non sur du virus fixe, c'est-à-dire un virus adapté par plus d'un millier de passages d'une part à l'organisme du lapin et d'autre part au système nerveux central. Il n'a pas été recherché non plus si, du fait de son affection, ce lapin avait acquis l'immunité contre l'inoculation sous-dure-mérienne du virus fixe.

2^e Convient-il d'accorder une grande importance au fait que

(1) REMLINGER et MUSTAFFA EFFENDI, Deux cas de guérison de la rage expérimentale chez le chien. Ces *Annales*, 1904, pp. 241-244.

(2) H. VINCENT, Sur la possibilité de la guérison spontanée de la rage expérimentale. *Société de Biologie*, 4 mai 1907.

le lapin qui fait l'objet de notre relation n'était pas neuf, mais avait reçu peu de temps auparavant dans les muscles de la nuque 2 cent. cubes, puis 10 cent. cubes d'une émulsion à $1/50$ de virus rabique? Nous n'en sommes nullement convaincu. Nous avons insisté en effet à plusieurs reprises sur ce qu'au cours des expériences de vaccination des lapins à l'aide des procédés les plus divers, les animaux éprouvés peuvent ou non prendre la rage, mais sur ce que, s'ils la contractent, celle-ci ne se différencie par aucune particularité de la rage des animaux neufs. De même il est de notoriété courante — et le fait a été exploité contre le traitement pasteurien — que la rage qui évolue parfois chez l'homme malgré la vaccination antirabique ne présente pas la moindre atténuation de symptômes par rapport à celle qui se manifeste chez les mordus non soumis aux injections. On notera au surplus que les trois lapins trépanés le 18 octobre en même temps que notre sujet avaient reçu dans la nuque, aux mêmes dates que lui, les mêmes quantités de virus. Or la maladie évolua chez eux de façon classique (début de la paralysie le 7^e jour; mort du 9^e au 10^e). Pour ces divers motifs, nous ne croyons guère que les 12 cent. cubes d'émulsion à $1/50$ reçus par l'animal dans les muscles de la nuque aient été chez lui pour beaucoup dans la guérison de la rage.

3^e Une hypothèse un peu hasardée, croyons-nous, consisterait à admettre que la rage qui a débuté chez notre lapin le 26 octobre était la conséquence non pas de la trépanation pratiquée le 18, mais de l'inoculation intra-musculaire de 10 cent. cubes d'émulsion à $1/50$ effectuée le 21 septembre. Cette interprétation ne diminuerait que fort peu l'intérêt de l'observation, la rage ayant, chez le lapin, le même pronostic fatal quel que soit le mode d'inoculation.

4^e L'opinion pourrait également être émise que l'injection de 10 cent. cubes d'émulsion à $1/50$, effectuée le 21 septembre, aurait déterminé, à la date du 26 octobre, non pas la rage véritable mais une de ces paralysies comme il s'en observe parfois chez l'homme au cours du traitement pasteurien. Dus à la toxine rabique renfermée dans les émulsions ou à un poison de la substance nerveuse normale, on sait que ces accidents sont presque toujours curables. Nous ne croyons pas cette

hypothèse valable. Une incubation de trente-cinq jours est bien longue pour des accidents déterminés par la toxine rabique et on conçoit mal qu'une immunité absolue contre la rage, comme celle de notre lapin, puisse succéder à des accidents paralytiques causés par la substance nerveuse normale.

5° M. Heckenroth (1) a récemment attiré l'attention sur la façon très particulière dont se comporte le virus rabique en Afrique Occidentale française. Au Sénégal, 1 lapin sur 9 est réfractaire au virus de rue; le virus fixe de l'Institut Pasteur se fixe très mal sur le lapin, au point qu'on voit des animaux trépanés ne succomber qu'au dix-septième, au dix-neuvième, voire au cinquante-cinquième jour. Nous avons observé au Maroc quelques faits qui peuvent être rapprochés des précédents et avons commencé des recherches sur cette question. Hypothèse pour hypothèse, nous nous demandons si ce n'est pas de ce côté qu'il conviendrait de chercher l'explication de ce cas singulier de guérison de la rage.

(1) HECKENROTH, La rage en Afrique Occidentale française. Ces *Annales*, août 1918, pp. 389-398.

Le Gérant : G. MASSON.

